

LYPSYKUTTujen PIILEVIEN UTARETULEHDUSTEN AIHEUTTAJABAKTEERIT SUOMESSA – POIKITTAISTUTKIMUS



Elina Soininen

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

2020

Työn ohjaaja: Eeva Mustonen

Työn johtaja: Päivi Rajala-Schultz

Tuotantoeläinten terveyden- ja sairaanhoidon oppiaine

Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen osasto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto



Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen osasto
Tekijä - Författare - Author Elina Soininen		
Työn nimi - Arbetets titel - Title Lypsykuttujen piilevien utaretulehdusten aiheuttajabakteerit Suomessa - poikittaistutkimus		
Oppiaine - Läroämne - Subject Tuotantoeläinten terveyden- ja sairaanhoidon oppiaine		
Työn laji - Arbetets art - Level Lisensiaatin tutkielma	Aika - Datum - Month and year 04/2020	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 42
<p>Tiivistelmä - Referat - Abstract</p> <p>Suomessa kutunmaidon tuotanto on pienimuotoista ja eläinmäärä vähäinen lypsylehmiin verrattuna. Tuottajille utaretulehdukset aiheuttavat taloudellisia tappioita, minkä lisäksi erityisesti piilevät eli subkliiniset utaretulehdukset heikentävät meijeriin päätyvän maidon laatua. Piilevien utaretulehdusten aiheuttajia kutuilla on selvitetty viimeksi Suomessa vuonna 1990, jolloin näytteissä on havaittu yksinomaan stafylokokkeja. Lypsykutuilla ei olla myöskään saatu yksiselitteistä vastausta korkean soluluvun ja utareen tulehdustilan väliseen yhteyteen, sillä aiheesta tehdyt tutkimukset ovat ristiriidassa keskenään. Kutunmaidon soluluku voi olla alhainen tulehtuneessa utarepuolikkaassa ja toisaalta korkea terveessä utarepuolikkaassa.</p> <p>Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää korkean soluluvun yhteyttä piilevien utaretulehdusten esiintymiseen samalla, kun tutkitaan tyypillisimpiä piilevien utaretulehdusten aiheuttajia ja niiden esiintyvyyttä (i. prevalenssia). Hypoteesina oli, että suurin osa taudinaiheuttajista olisi KNS-bakteereita, minkä lisäksi karjassa esiintyisi <i>Staphylococcus aureus</i> ja <i>Streptococcus</i> spp. -bakteereita.</p> <p>Työssä suoritettiin poikittaistutkimus yhdellä suurella lypsykuttutilalla. Tilalta kerättiin satunnaistetulla otoksella lypsykutuilta maitonäytteitä (n=118), joissa bakteeriviljelyllä diagnosoitiin näytteissä esiintyneet taudinaiheuttajat. Tutkituista eläimistä mitattiin soluluku solutestillä sekä DeLaval DCC solulaskurilla.</p> <p>Näytteiden perusteella piilevien utaretulehdusten esiintyvyydeksi saatiin 9,3%. Esiintyvyys on kansainvälisesti alhainen. Näytteenotto on suoritettu vain yhdeltä tilalta, mikä heikentää tuloksen yleistettävyyttä koko maan tautitilanteeksi, sillä aiemmissa tutkimuksissa on saatu suurta karjakohtaista vaihtelua esiintyvyydessä tilojen hygieniatason mukaan. Suurin osa (82%) taudinaiheuttajista oli KNS-bakteereita ja loput (18%) <i>Enterococcus</i> spp. -bakteereita. Tämä ei vastannut täysin hypoteesia, sillä <i>S. aureus</i> ja <i>Streptococcus</i> spp. -bakteereita ei esiintynyt näytteissä lainkaan. Oli kuitenkin odotusten mukaista, että KNS-bakteereita esiintyi näytteissä eniten. <i>Streptococcus</i> spp. -bakteerin esiintyminen on kirjallisuudessa yhdistetty erityisesti makuualustojen huonoon hygieniaan, joten sen puuttuminen tuloksista voi olla karjakohtaisesta hyvästä hygieniasta johtuvaa.</p> <p>Tuloksissa korkea soluluku oli huonosti yhteydessä utareen tulehdustilan kanssa, mikä on linjassa aiempien eli edelleen ristiriitaisten tutkimustulosten kanssa. Soluluvun käyttökelpoisuus kuttujen utaretulehduksen diagnostiikassa jää edelleen kyseenalaiseksi. Tämän perusteella jää edelleen tarve toimivalle edulliselle testille, jolla voitaisiin seuloa kuttujen piileviä utaretulehduksia esimerkiksi lypsyn yhteydessä.</p>		
Avainsanat - Nyckelord - Keywords vuohi, kuttu, lypsykuttu, subkliininen, piilevä utaretulehdus, prevalenssi, esiintyvyys, utaretulehdus, mastiitti, soluluku, cmt, solutesti, DeLaval DCC solulaskuri, KNS-bakteerit, <i>Enterococcus</i> spp., bakteeriviljely, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> spp.		
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited		
HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto		
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) Työn johtaja: Päivi Rajala-Schultz Työn ohjaaja: Eeva Mustonen		

SISÄLLYS

1 JOHDANTO.....	1
2 KIRJALLISUUSKATSAUS.....	3
2.1 Suomenvuohi eläimenä.....	3
2.1.1 Utareen anatomia	3
2.2 Vuohen maito.....	5
2.2.1 Maidon laatu ja hygienia.....	6
2.2.2 Somaattiset solut maidossa	6
2.2.3 Somaattisten solujen määrän mittaus.....	10
2.3 Taudinaiheuttajan diagnosoinnin yleisimmät menetelmät	13
2.4 Utaretulehdukset	14
2.4.1 Bakteeriperäiset utaretulehdukset	15
2.4.1.1 Kliiniset utaretulehdukset	17
2.4.1.2 Piilevät utaretulehdukset.....	18
2.5 Utaretulehduksen riskitekijöitä.....	22
3 AINEISTO JA MENETELMÄT	24
3.1 Tutkitut eläimet.....	24
3.2 Näytemäärä	24
3.3 Tutkimusmenetelmät	25
3.4 Tilastolliset menetelmät.....	28
4 TULOKSET	29
5 POHDINTA	34
6 LÄHDELUETTELO	37

1 JOHDANTO

Suomessa vuohenmaidon tuotanto on pienimuotoista ja tuotantoeläinten määrä vähäinen verrattuna esim. lypsylehmiin, joita oli 271 000 kappaletta tutkimusvuonna 2018 (SVT 2019). Suomessa vuohien määrää on tilastoitu vuodesta 1990, jolloin niitä oli n. 6000 kappaletta. Tämän jälkeen niiden määrä on vaihdellut n. 9000 kappaleesta (vuonna 2000) n. 4000 kappaleeseen (vuonna 2014). Tutkimusvuonna 2018 vuohien lukumääräksi Suomessa on tilastoitu 5400 kappaletta (SVT 2019). Vuohenmaidolla on kuitenkin vakiintunut asema ihmisten ravitsemuksessa. Kehitysmaissa vuohenmaito on lehmänmaitoa yleisempi ja merkittävämpi ravinnonlähde aliravituille ihmisille. Muuten maailmalla vuohenmaito sopii erityisesti lehmänmaidolle herkistyneille ihmisille, minkä lisäksi niillä on kysyntää gastronomisia kokemuksia etsivien ”ruokahifistelijöiden” parissa (Haenlein 2004). Suomessa vuohenmaidosta jatkojalostetaan erityisesti erilaisia vuohenjuustotuotteita.

Maidontuotannossa utaretulehdukset aiheuttavat suuria taloudellisia tappioita tuotantotilallisille, minkä lisäksi varsinkin piilevät eli subkliiniset utaretulehdukset heikentävät meijerille päätyvän maidon laatua. Selvittämällä yleisimmät utaretulehduksen aiheuttajat ja niille altistavat riskitekijät, voidaan saada utaretulehdusten ilmaantuvuutta vähennettyä sekä valita utaretulehduksen hoitoon todennäköisimmin sopiva lääkitys paremmin. Samalla saadaan tuotantotappioita pienemmäksi ja maidon laatua korkeammaksi. Aiemmin vuohien utaretulehdusten taudinaiheuttajien esiintyvyyttä Suomessa on tutkinut Maisi (1990). Maisi (1990) keskittyi tutkimuksessaan vuohien piilevien utaretulehdusten taudinaiheuttajien esiintyvyyteen Suomessa. Tutkimuksessaan Maisi (1990) tutki 39 vuolta, joilta löydetty taudinaiheuttajat olivat stafylokokkeja. Suomen ulkopuolella tyypillisimpiä piilevien utaretulehdusten taudinaiheuttajia ovat olleet stafylokokit, erityisesti KNS-bakteerit, mutta myös *Staphylococcus aureus* -bakteeri. Tutkimuksissa käytettyjen tilojen pito-olosuhteet (erityisesti lypsyhygienia ja eläintenpitotilojen hygienia) ovat vaikuttaneet karjoissa esiintyvien taudinaiheuttajien kirjoon, erityisesti streptokokkien ja gramnegatiivisten basillien esiintyvyyteen. Lisäksi Etelä-Euroopassa esiintyy *Mycoplasma* spp. -bakteereita.

Tämä lisensiaatintutkielma koostuu kirjallisuuskatsauksesta sekä alkuperäistutkimuksesta. Kirjallisuuskatsauksessa käsitellään vuohen utareen normaalianatomiaa, vuohenmaidon laatua, utareen tulehdustilan mittaamenetelmiä, utaretulehduksen aiheuttajia ja sen riskitekijöitä.

Tutkimusosiossa selvitetään piilevien utaretulehdusten esiintyvyyttä, tulehdusten tyypillisimpiä aiheuttajia sekä korkean soluluvun yhteyttä utareen tulehdustilaan. Tämän lisensiaatintutkielman tutkimusosuus suoritettiin Helsingin yliopiston eläinlääketieteellisen tiedekunnan kliinisen tuotantoeläinlääketieteen osastolla helmikuussa 2018. Tutkimuksen hypoteesina oli, että taudinaiheuttajien esiintyvyys muistuttaisi Suomen aiempaa tautitilannetta sekä Ruotsin viimeaikaista tautitilannetta, jolloin suurin osa löydetyistä taudinaiheuttajista olisi KNS-bakteereita, minkä lisäksi karjassa esiintyisi *S. aureus* -bakteeria sekä mahdollisesti streptokokkeja.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 Suomenvuohi eläimenä

Suomenvuohi on Suomen alkuperäisrotu ja vuohitilojen yleisin vuohirotu Suomessa (Eläingeenivaratyöryhmä 2004, Luke 2015). Keinosiemennyksen avulla Suomeen on saatu myös alpine-, saanen- ja boer-risteytysvuohia (Huitin Holstein 2020). Kotieläinpihoilla tavataan pieniä määriä muita vuohirotuja, kuten kääpiövuohia, joita ei ole tilastoitu. Vuohien määrä Suomessa tutkimusvuonna 2018 oli n. 5400 kappaletta (SVT 2019). Perustietoa suomenvuohesta on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Perustietoa vuohesta (Luke 2015, Suomen vuohiyhdistys 2017).

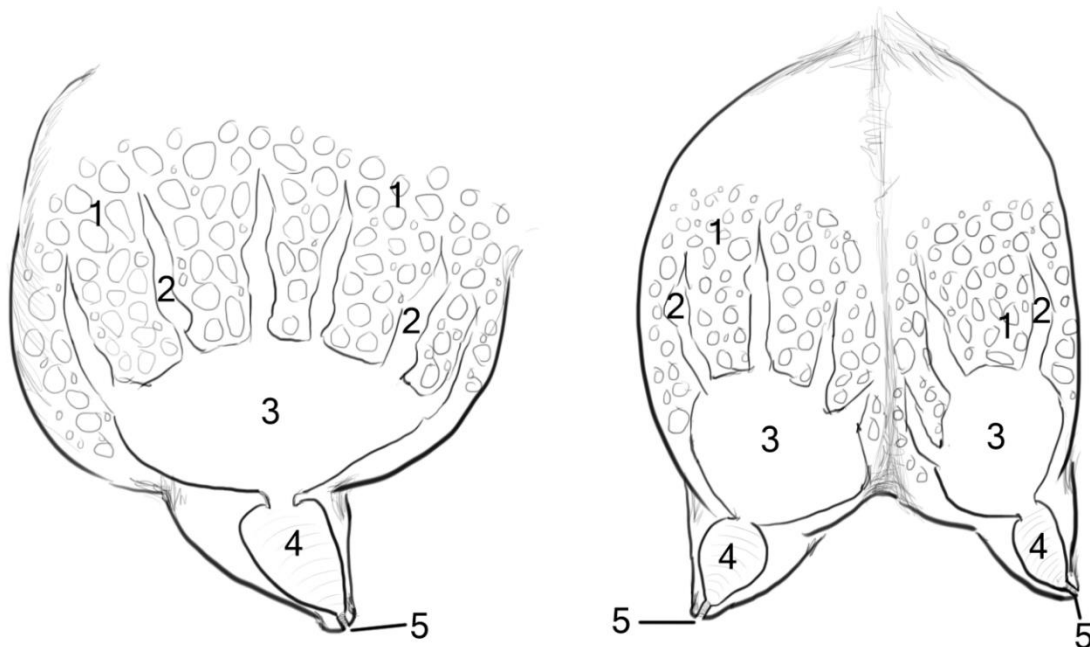
Ominaisuus	Tyypillinen vaihteluväli
Kutun paino	40-60 kg
Pukin paino	50-70 kg
Karvan laatu	Tiheä ja pitkä
Karvan väri	Valkoinen, musta, harmaa tai kirjava, harvoin myös ruskea
Sarvet	Sarvellinen tai sarveton (eli nupo)
Maidon tuotos (päivässä)	Jopa yli 5 kg
Maidon tuotos (vuodessa)	500-1500 kg
Ulosteen laatu	Kiinteä ja kova
Sukukypsyys	n. 4-5 kuukauden iässä
Kiiman kesto	12-48 tuntia
Normaali ruumiinlämpö	38,5-40,5°C
Pulssi	75-90 krt/min
Hengitystiheys	15-30 krt/min

2.1.1 Utareen anatomia

Rinnasta tai nisästä käytetään latinankielistä sanaa *Mamma*, minkä lisäksi märehtijöiden ja hevosen utareesta käytetään sanaa *Uber* (Constantinescu & Schaller 2012). Vuohen utareessa

on kaksi anatomisesti ja toiminnallisesti erillistä rauhasta (*Corpus mammae*) eli utare on jakautunut kahteen eri puolikkaaseen (Plummer & Plummer 2012). Molemmilla puolikkailla on oma vedin (*Papilla mammae*) eli vetimiä on yhteensä kaksi. Vedin sijaitsee kunkin puolikkaan ventraalipuolella, mistä maito tulee ulos.

Utarepuolikkaiden väliin jää vako (*Sulcus intermammarius*) joka erottaa puolikkaat toisistaan (Constantinescu & Schaller 2012). Molemmilla utarepuolikkailla on lateraalinen ja mediaalinen side (*Laminae laterales* ja *Laminae mediales*) (Constantinescu & Schaller 2012). Puolikkaiden mediaaliset siteet muodostavat yhdessä utareen keskisiteen (*Ligamentum suspensorium uberis*) (Plummer & Plummer 2012). Keskiside lähtee dorsaalisesti vatsan *Tunica flava abdominis* -kalvosta (Constantinescu & Schaller 2012).



Kuva 1. Utareen poikkileikkauskuva sivusta (vasemmalla) sekä takaa (oikealla). Maitoa tuottavassa rauhasosassa (1) on useita rauhaslokoja (*Glandula mammaria*), joista maito kulkee kuudesta yhdeksään maitokanavaan (2) (*Ductus lactiferi*). Kanavat yhdistyvät muodostaen maitokammion (3) (*Sinus lactifer pars glandularis*), josta maito pääsee vedinonteloon (4) (*Sinus lactifer pars papillaris*). Vedinontelosta maito pääsee ulos vedinkanavan (5) (*Ductus papillaris*) kautta. Vedinkanavan aukkoa (*Ostium papillare*) säätelee sulkijalihas *Musculus sphincter papillae* (Plummer & Plummer 2012). Maitokammion (3) ja vedinontelon (4) välissä on rengaslaskimo (*Circulus venosus papillae*), joka erottaa nämä toisistaan. Vedinontelon seinämän rakenne on kerroksittainen. Siinä on sisältä ulospäin lueteltuna mukoosakerros, verisuoni- ja sidekudoskerros, ympyränmuotoinen sekä pitkittäinen lihaskerros sekä epiteelikerros (Plummer & Plummer 2012).

Utareen suurin verta tuova suoni on *Arteria pudenda externa* -valtimo (Plummer & Plummer 2012). Alueen suurimmat laskimot ovat dorsaalisesti kulkeva *Vena pudenda externa* (Plummer & Plummer 2012), kraniolateraalisesti kulkevat *V. epigastrica caudalis superficialis* [*mammaria cranialis*] (Constantinescu & Schaller 2012) sekä *V. epigastrica cranialis superficialis* (Plummer & Plummer 2012, Constantinescu & Schaller 2012) ja lisäksi utareen lateraalipinnalta sen dorso-kaudaalipuolelle kulkeva *V. labialis ventralis* [*mammaria caudalis*] (Constantinescu & Schaller 2012). Utareen imusolmukkeet sijaitsevat utareen dorso-kaudaalipuolella (*Lymphonodi inguinales superficiales*) (Plummer & Plummer 2012). Utareen rauhasosaa hermottaa *Nervus genitofemoralis*, minkä lisäksi alueella on pinnallisia hermoja (Plummer & Plummer 2012).

2.2 Vuohenmaito

Vuohenmaidon ja siitä saatavien elintarvikkeiden kysyntä on kasvussa. Terveysystyistä monet lehmänmaidolle herkistyneet tai muuten ruoansulatuskanavaperäisesti oireilevat ihmiset juovat vuohenmaitoa lehmänmaidon sijaan (Haenlein 2004). Myös gastronomisia kokemuksia etsivien ”ruokahifistelijöiden” parissa vuohenmaidolla ja siitä saatavilla elintarvikkeilla on kysyntää. Lisäksi vuohenmaito on ollut jo kauan kehitysmaissa lehmänmaitoa yleisempi ja merkittävämpi ravinnonlähde aliravituille ihmisille (Haenlein 2004).

Eurooppalaisilla vuohiroduilla valkuaispitoisuus on tyypillisesti 2,9% ja rasvapitoisuus 3,8% (Jandal 1996). Maidon pitoisuudet ovat kuitenkin rotukohtaisia ja riippuvaisia ruokinnasta: miniatyyriroduilla onkin raportoitu jopa 5,0% valkuaispitoisuutta ja 6,9% rasvapitoisuutta (Plummer & Plummer 2012). Vuohenmaito eroaa lehmänmaidosta myös sekä proteiini- että rasvakoostumuksensa osalta. Vuohenmaidossa on lehmänmaitoa enemmän kuutta kymmenestä välttämättömästä aminohaposta. Rasvakoostumukseltaan vuohenmaito eroaa terveydelle edullisten lyhytketjuisten rasvahappojen määrässä, sillä niitä on vuohenmaidossa lehmänmaitoa enemmän (Haenlein 2004). Lehmänmaitoon verrattuna vuohenmaidossa on myös pienempi laktoosipitoisuus, mineraaleja on hyödynnettävässä muodossa enemmän ja vitamiineja (varsinkin A-vitamiinia) on enemmän (Turkmen 2017). Se myös muistuttaa kaseiinipitoisuudeltaan ihmisen maitoa, minkä vuoksi se saattaa olla lehmänmaitoa paremmin sulavaa ihmisen ruoansulatuskanavassa (Turkmen 2017).

2.2.1 Maidon laatu ja hygienia

Maidon ja maitotuotteiden laatuun vaikuttaa se, kuinka paljon siinä on alun perin soluja ja bakteereita, kuinka hygieenisesti sitä käsitellään säilytyksen ja siirron aikana, ja saadaanko se pidettyä tarpeeksi viileänä koko ketjun ajan lypsystä elintarvikekäyttöön. Tämän lisäksi maitotuotteen turvallisuutta voidaan lisätä maidon kuumakäsittelyllä. Kuumakäsittely ei takaa tuotteen turvallisuutta, sillä esimerkiksi stafylokokkien tuottamat enterotoksiinit eivät välttämättä inaktivoidu kuumakäsittelystä. Tutkimuksessaan Valle ym. (1990) havaitsivat kliinisesti terveiden kuttujen maidossa stafylokokkien tuottamia enterotoksiineja 12,8%:lla tutkituista kutuista (n=133).

EU-lainsäädännössä on määritelty vuohenmaidon laadulle raja Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksessa (EY) N:o 853/2004. Asetuksessa säädetään eläinperäisiä elintarvikkeita koskevista erityisistä hygieniasäännöistä, jonka liitteessä III (erityisvaatimukset) IX jakson (raakamaito ja meijerituotteet) I luvun (raakamaito – alkutuotanto) alakohdat III.3.a.ii sekä III.3.b koskevat vuohenmaidon sallittuja pesäkemääriä. Näiden mukaisesti lämpökäsiteltävän vuohen raakamaidon pesäkemäärän kahden kuukauden keskiarvon on oltava 30°C:n lämpötilassa $\leq 1\,500\,000$ pesäkettä muodostavaa yksikköä (pmy)/ml. Mikäli raakamaitoa ei lämpökäsitellä, on vastaavilla vaatimuksilla pesäkemäärän keskiarvon oltava alhaisempi, raja-arvona $\leq 500\,000$ pmy/ml.

Lehmillä samaan asetukseen ((EY) N:o 853/2004) on kirjattu somaattisten solujen määrän eli soluluvun kolmen kuukauden keskiarvolle raja-arvoksi $\leq 400\,000$ somaattista solua/ml. Lehmillä soluluku kertoo utareen terveydentilasta, sillä se nousee huomattavasti utaretulehduksessa. Vuohen raakamaidon soluluvulle ei olla määritelty lainsäädännössä raja-arvoa, koska vuohilla maidon solulukuun vaikuttavat utaretulehduksen lisäksi lehmää enemmän myös normaalit fysiologiset toiminnot. Kutun normaalin ja patogeenisen soluluvun raja-arvo on paljon tutkittu ja kiistelty aihe.

2.2.2 Somaattiset solut maidossa

Somaattisia soluja ovat kaikki muut kehon solut, paitsi ituradan solut eli sukusolut. Näiden määrää voidaan mitata yksilökohtaisesti maidosta tai karjakohtaisesti tankkimaidosta.

Vuohella infektoitumattoman utareen maidossa voi olla eri lähteiden mukaan 50 000 – 400 000 somaattista solua/ml (Paape & Capuco 1997). Tutkimuksessaan Persson & Olfsson (2011) määrittivät DeLaval DCC solulaskurilla keskimääräiseksi bakteerittoman utarepuolikkaan maidon soluluvuksi jopa 481 000 solua/ml. Vuohen solulukku voi olla korkea infektoitumattomassa utareessa ja toisaalta myös pysyä alhaisena infektoituneessa utareessa. Tämän vuoksi pelkkää solulukua ei pidetä hyvänä menetelmänä vuohen utareen infektion diagnostiikassa.

Vuohen utareen rauhasosan maidoneritystä pidetään apokriinisena (Wooding & Peaker 1970), kun lehmällä erityis on merokriinista. Apokriinisessä erityksessä erittävästä solusta kuroutuu irti palanen, mikä lisää maitoon päätyvän sytoplasman määrää. Tästä johtuen sytoplasmisten partikkelien määrä on korkeampi vuohenmaidossa verrattuna merokriinisesti erittävien eläinten maitoon. Sytoplasmisissa partikkeleissa ei ole DNA:ta, mutta valkosoluja muistuttavan kokonsa vuoksi monet soluluvun mittaamenetelmät tulkitsevat nämä somaattisiksi soluiksi (Matthews 2016). Myös rauhasista ja rauhastiehyistä peräisin olevia epiteelisoluja voi päätyä maitoon, mikä nostaa solulukua myös terveen utareen maidossa. Somaattisten solujen määrään terveen utareen maidossa vaikuttaa myös maidon solukoostumus, joka vuohella poikkeaa lehmästä. Terveessä utareessa vuohenmaidon somaattisista soluista 50-70% on neutrofiilejä, kun vastaava määrä lehmällä on alhaisempi, 5-20% (Paape & Capuco 1997). Neutrofiilit ovat vedinkanavan ja utareen ensimmäinen immunologinen puolustautumiskeino (Paape & Capuco 1997), minkä vuoksi niiden määrä kasvaa merkittävästi tulehdustilassa. Varsinkin merkittäväillä taudinaiheuttajilla (kuten *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* ja *Streptococcus agalactiae*) infektoituneissa utareissa neutrofiilien ja eosinofiilien osuus somaattisista soluista kasvaa huomattavasti (Bagnicka ym. 2011). Yleensä tämä puolustustilanteessa eli utaretulehduksessa nouseva neutrofiilien määrä havaitaan soluluvun nousuna, mutta vuohenmaidon sytoplasmisten partikkelien suuren määrän ja normaalisti korkean neutrofiilien määrän vuoksi utaretulehdus ei aina nosta merkittävästi jo valmiiksi korkeaa solulukua.

Vuohen solulukkuun vaikuttavia tilastollisesti merkitseviä tekijöitä ovat myös maidontuotosvaihe eli laktaatiovaihe (Wilson ym. 1995, Luengo ym. 2004), poikimakerta (Wilson ym. 1995), ikä (McDougall ym. 2014), karja, syntyneiden kilien määrä (Luengo ym. 2004), kiima (McDougall & Voermans 2002, Mehdid ym. 2013), lypsytekniikka (Lu ym. 1991), viereisen utarepuolikkaan tulehdustila (Maisi 1990), lypsytiheys, ruokinta, perimä

(Matthews 2016), ruokinnallinen stressi (asidoosi) ja rokottaminen (Lerondelle ym. 1992). Kaikki näistä tekijöistä eivät aiheuta yhtä suurta muutosta solulukuun.

Soluluku nousee, mitä pidemmälle lypsykaudessa mennään ja mitä pidemmän aikaa viimeisimmästä ummesta olost on (Wilson ym. 1995). Tutkimuksessaan Wilson ym. (1995) havaitsivat myös poikimakertojen lisääntymisen kasvattavan progressiivisesti solulukua, mutta tämä kasvu nousee tilastollisesti merkitsevästi esiin vain täysin terveitä utareita tarkasteltaessa, koska soluluvun vähäinen kasvu poikimakertojen mukana jää tilastoissa infektioiden aiheuttaman soluluvun kasvun varjoon (Luengo ym 2004).

Useamman kerran poikineet kutut ovat alttiimpia infektioille, mikä kasvattaa myös useamman kerran poikineiden kuttujen solulukua (Luengo ym. 2004). Useamman kuin yhden kilin poikiminen kasvatti myös maidon solulukua, minkä arvellaan johtuvan utareen rauhasparenkyymin suuremmasta kehityksestä useamman kilin poikimisissa (Luengo ym. 2004).

Kiiman on myös todettu nostavan solulukua. Tutkimuksessaan McDougall ja Voermans (2002) havaitsivat maidon määrän laskusta riippumatonta solupitoisuuden kasvua hormonivalmisteilla indusoidussa kiimassa, mutta solupitoisuuksien kasvua on havaittu myös spontaanien kiimojen yhteydessä. Vastaavia tuloksia saivat myöhemmin myös Mehdid ym. (2013), joiden mukaan kiiman solulukua nostava vaikutus pitäisi huomioida infektioiden diagnostiikassa virheellisten tulkintojen välttämiseksi. Soluluvun kasvu tapahtuu kiiman estrusvaiheessa ja laskee hitaasti luteaalivaihetta lähestyttäessä (Moroni ym. 2007). Moroni ym. (2007) arvelevat soluluvun kasvun olevan estrogeenin käynnistämää utareen epiteelisolujen lisääntymisen ja hilseilyn tulosta, sillä soluluvun kasvun havaittiin olevan yhteydessä plasman korkeaan estradiolipitoisuuteen ja alhaiseen progesteronipitoisuuteen.

Lypsytekniikalla ja lypsylaitteiston oikeilla asetuksilla on vaikutusta kuttujen solulukuun. Korkea lypsyalipaine lisää somaattisten solujen määrää maidossa (Lu ym. 1991). Oikeilla lypsykoneen asetuksilla saadaankin optimoitua lypsyn nopeus, maidon määrä sekä somaattisten solujen määrä mahdollisimman alhaiseksi. Lu ym. (1991) ovat suositelleet näillä kriteereillä lypsyalipaineeksi 45-52 kPa, tykyttimen nopeudeksi 90 kertaa/minuutti ja imusuhteeksi 60:40. Sinapsis ym. (2000) suosittelevat hieman alhaisempaa painetta, jolloin lypsy hidastuu, mutta

somaattisten solujen määrä on vielä alhaisempi: heidän suosituksensa lypsyalipaineeksi olisi 36-44 kPa, tykyttimen nopeudeksi 70-90 kertaa/minuutti ja imusuhteeksi 65:35.

Fysiologisten syiden lisäksi myös vuohilla utareen infektiio vaikuttaa merkitsevästi solulukuu. Infektiota (intramammary infection l. IMI l. taudinaiheuttajasta johtuva utaretulehdus) pidetään perinteisesti suurimpana solulukua kasvattavana tekijänä. Tutkimuksessaan Wilson ym. (1995) kävivät läpi 380 lypsykuttua, eivätkä löytäneet syytä 77%:lle somaattisten solujen määrän vaihtelusta, minkä lisäksi yli 90% vaihtelusta johtui jostain muusta kuin utareen infektiosta. Infektion ollessa syynä soluluvun kasvu, kasvattaa se yleensä solulukua huomattavasti enemmän kuin fysiologiset syyt. Eri taudinaiheuttajien kyky nostaa solulukua kuitenkin vaihtelee (Maisi & Riipinen 1991, Luengo ym. 2004), joten myöskään infektioiden aiheuttama soluluvun nousu ei aina eroa solupitoisuuden fysiologisesta noususta. Tutkimuksessaan Luengo ym. (2004) jakoivat infektioiden taudinaiheuttajat matalapatogeenisiin ja korkeapatogeenisiin sen mukaan, kuinka paljon ne kasvattivat solulukua: matalapatogeenisia olivat koagulaasinegatiiviset stafylokokit (KNS), *Corynebacterium* spp. sekä *Microsporium* spp. ja korkeapatogeenisia olivat *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae*, non-*Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* spp. sekä *Mycoplasma* spp. Myös viereisen utarepuolikkaan tulehdustila voi kasvattaa terveen puolikkaan solulukua (Maisi 1990). Viereinen terve utarepuolikas on myös alttiimpi infektiolle, mikäli toinen puolikas on jo tulehtunut. Saman eläimen utarepuolikkaiden soluluvun eroa vertailemalla voidaankin yleensä erottaa fysiologisista syistä ja infektiosta johtuvia soluluvun nousuja (Poutrel & Lerondelle 1983).

Lisäksi Caprine arthritis encephalitis eli CAE-taudin on tutkittu nostavan vuohenmaidon solulukua (Lerondelle ym. 1992, Ryan ym. 1993, Sánchez ym. 2001). CAE-virusinfektiosta johtuva soluluvun nousu ei ole yhtä suuri kuin bakteeriperäisestä infektiosta aiheutuva soluluvun nousu (Sánchez ym. 2001). CAE-virusinfektio laskee soluluvun spesifisyyttä bakteeriperäisten utaretulehdusten diagnosoinnissa, koska se on bakteeriperäisten utaretulehdusten tapaan solulukua kasvattava tekijä (Ryan ym. 1993). Lisäksi ennestään CAEV-seropositiivisella vuohella uusi bakteeri-infektio ei enää merkittävästi kasvata maidon solulukua (Sánchez ym. 2001). CAE-virusinfektio ei kasvata alttiutta bakteeri-infektioille (Sánchez ym. 2001, Luengo ym. 2004). CAE-virusinfektion vaikutuksista solulukuun on kuitenkin saatu myös ristiriitaisia tuloksia. Tutkimuksessaan Nord ja Ådnøy (1997) havaitsivat soluluvun olevan korkeampi vain 2-vuotiailla CAEV-seropositiivisilla kutuilla. Hieman vastaavia tuloksia saivat Plawinska-Czarnak ym. (2014) havaitessaan tilastollisesti merkitsevää

solulukujen nousua sekä maidontuotoksen laskua vain toisen ja viidennen lypsykauden (l. laktaatiokauden l. maidontuotoskauden) CAEV-seropositiivisilla vuohilla. Tämän lisäksi monissa viimeaikaisissa tutkimuksissa ei ole löydetty lainkaan yhteyttä CAEV-seropositiivisuuden ja soluluvun nousun välillä (Luengo ym. 2004, Leitner ym. 2010, Kaba ym. 2012). Luengo ym. (2004) pohtivat tutkimuksessaan, voisivatko ristiriitaiset tutkimustulokset johtua CAEV-seropositiivisten kuttujen oireettomuudesta. Useimmissa tutkimuksissa CAE-infektio havaitaan pelkkänä seropositiivisuutena, mikä voisi olla syy myös alhaiseen solulukuun. Mikäli CAE-infektio ei aiheuta oireita, ei se välttämättä aiheuttaisi myöskään soluluvun nousua. Toisaalta työssään Kaba ym. (2012) pitivät tutkimusten Nord ja Ådnøy (1997) sekä Leitner ym. (2010) tilastollisia tuloksia epäluotettavina, koska Nord ja Ådnøy (1997) ottivat työhönsä mukaan myös epäselviä tuloksia saaneita kuttuja, kun taas Leitner ym. (2010) loivat tilastoihinsa ylimääräisen ryhmän tutkimuksen aikana serokonvertoituneille kutuille.

Maa- ja metsätalousministeriön asetuksen (MMM 843/2013) vastustettavista eläintaudeista ja niiden luokituksesta pykälän viisi mukaan CAE-tauti on luokiteltu Suomessa vastustettavaksi ja valvottavaksi eläintaudiksi. Tämän lisäksi Ruokavirasto seuraa Suomen CAE-virustilannetta vapaaehtoisen terveystalouden avulla, eikä näytteissä olla todettu CAE-viruksen vasta-aineita (Ruokavirasto 2020). Näiden asioiden vuoksi CAE ei ole Suomen kannalta merkityksellinen solulukuun vaikuttava tekijä.

2.2.3 Somaattisten solujen määrän mittaus

Somaattisten solujen määrää maidosta voidaan mitata suorilla tai epäsuorilla menetelmillä. Vuohenmaidon soluluvun mittaauksessa luotettavina menetelminä pidetään pelkkiä DNA:ta sisältäviä partikkeleita mittaavia menetelmiä, koska vuohenmaito sisältää paljon DNA:ta sisältämättömiä sytoplasmisia partikkeleita, jotka useat mittaamenetelmät tulkitsevat somaattisiksi soluiksi.

Yleisimmin käytettyjä epäsuoria mittaamenetelmiä on esimerkiksi solutesti (l. lettupannutesti l. California Mastitis Test l. CMT l. Solu-Test). Solutestissä tutkittavaan maitoon lisätään reagenssia, minkä seurauksena tapahtuva saostumisen aste osoittaa somaattisten solujen määrän maidossa. Solutestin luotettavuudesta vuohilla ollaan montaa mieltä, ja monet tutkimukset ovat päätyneet pitämään solutestiä epäluotettavana diagnosointimenetelmänä utareen infektiolle

(Bergonier ym. 2003, Schaeren & Maurer 2006). Toisissa tutkimuksissa solutestillä saadut soluluvut ovat valheellisen korkeita, eli antavat paljon valepositiivisia tuloksia (Contreras ym. 1996). Negatiivinen solutesti (luokka 1) kuitenkin korreloi hyvin utareen terveyden kanssa, eli negatiivisen tuloksen saanut utarepuolikas on yleensä myös terve puolikas, jolloin solutestiä voidaan käyttää kohtalaisella luotettavuudella poissulkemaan utaretulehdukset (Contreras ym. 1996, Karzis ym. 2007, Petzer ym. 2008). Kaikki taudinaiheuttajat eivät nosta yhtä paljon solulukua, minkä vuoksi tutkimuksessaan Schaeren ja Maurer (2006) olivat saaneet 20%:ssa KNS-tartunnoista valenegatiivisen tuloksen, eivätkä pitäneet solutestiä hyvänä infektion diagnosointimenetelmänä. On useampia uusia tutkimuksia, joissa solutestiä pidetään utareen infektion diagnostiikkaan soveltuvana menetelmänä. Ruotsalaisessa tutkimuksessa Persson ja Olofsson (2011) vertasivat solutestillä ja DeLaval DCC solulaskurilla (l. DeLaval cell counter l. DCC-mittarilla) saatavia tuloksia bakteeriviljeltyjen maidonäytteiden tuloksiin. Solutestin ja DCC-mittarin tulokset olivat huomattavan yhdenmukaiset (Cohenin kappa-arvo 0,64). Solutestin tulos 1 (asteikolla 1-5, DCC solulaskurilla keskimäärin 255 000 solua/ml) korreloi terveen utareen kanssa, kun taas tulos ≥ 2 (DCC solulaskurilla $\geq 455\ 000$ solua/ml) korreloi infektion kanssa (sensitiivisyys 0,54 ja spesifisyys 0,62). Tutkimuksessa oli käytetty vain lypsykauden keski- ja loppuvaiheessa olevia kliinisesti terveitä kuttuja (n=111). Ruotsin olosuhteet ovat lähellä Suomen olosuhteita tautilanteen sekä vuohenpito-olosuhteiden suhteen, minkä vuoksi myös Suomessa solutesti voisi toimia hyvin tilalla käytettävänä diagnostisena menetelmänä vuohien piilevissä utaretulehduksissa. Myös Suomessa on tutkittu solutestin toimivuutta kuttujen piilevien utaretulehdusten arvioinnissa (n=39) (Maisi 1990). Stafylokokkitartunnan todettiin nostavan merkittävästi solutestin tulosta asteikolla 1-5 (Maisi 1990). Terveen utarepuolikkaan solutestin keskiarvoksi saatiin 1,59 (keskihajonta 1,00), infektoituneen utarepuolikkaan viereisen terveen puolikkaan keskiarvoksi 2,68 (keskihajonta 1,42) ja infektoituneen utarepuolikkaan keskiarvoksi 3,78 (keskihajonta 1,04). Maisi (1990) pitää tulosta 4 riittävänä tartunnan indikaattorina, ja tulosta 3 riittävänä tartunnan epäilyyn (suositus ei koske ternimaitoa). Solutestin sensitiivisyydeksi ja spesifisyydeksi saatiin 86,8% ja 85,8%, kun raja-arvoksi pistettiin terveen utarepuolikkaan keskiarvo + keskihajonta eli 2,59 (Maisi 1990).

Suoria mittaamenetelmiä ovat erilaiset suoramikroskopointiin ja automaattisiin optisiin mittareihin perustuvat menetelmät. Suoramikroskopointia ovat laboratoriossa suoritettavat maidonäytteen värjäykset, joiden solulaskenta suoritetaan mikroskoipoimalla. Erilaisia automaattisia optisia mittareita ovat esim. DeLaval DCC solulaskuri, joka ottaa

mikroskopointia vastaavan kuvan näytteestä, josta automaattisesti laskee soluina pitämänsä partikkelit. Hyvinä ja luotettavana laboratoriovärjäyksenä pidetään esimerkiksi metyyliivihreä-pyroniini-Y-värjäystä (Haenlein 2002), mutta värjäykset ja suorat mikroskooppilaskennat ovat myös hitaita ja kalliita (Matthews 2016). DeLaval DCC solulaskuri on pieni ja kuljetettava automaattinen mittari, jota voidaan käyttää myös tilalla. DCC solulaskuri sekoittaa maitonäytteen kertakäyttöisen kasetin reagenssinesteeseen ja laskee optisesti solujen määrän millilitrassa maitoa. DCC solulaskurilla saadut arvot vastaavat todella hyvin (95%) suoralla mikroskopoinnilla saatuja luotettavana pidettyjä solulukujen tuloksia (Berry & Broughan 2007), joten tätä voidaan pitää luotettavana mittaamenetelmänä, joka voidaan suorittaa heti paikan päällä. Persson ja Olofsson (2011) ehdottavat utareen infektion diagnostiseksi raja-arvoksi DCC solulaskurilla 345 000 solua/ml (sensitiivisyys 0,67 ja spesifisyys 0,63).

Vuohenmaidon solupitoisuuden mittaamiseen ei pidetä hyvinä menetelminä erilaisia sähkönjohtavuuden mittaamiseen perustuvia epäspesifisiä partikkelilaskimia, kuten Coulter counter -menetelmää käyttäviä impedanssin muutoksen mittareita. Tällä menetelmällä kaikki maidon partikkelit ohjataan jännite-eron omaavien kammioiden välisen pienen kanavan läpi, josta mennessään ne muuttavat hetkellisesti sähkön vastusta. Sähkön vastuksen muutosten perusteella lasketaan ohimenevien partikkeleiden määrä riippumatta siitä ovatko ne somaattisia soluja. Näillä menetelmillä saadut arvot ovat vuohenmaidon koostumuksen vuoksi suurempia mitä todellisuudessa soluluku on (Matthews 2016). Tällä menetelmällä saadut keskimääräiset soluluvut ovat olleet terveelle utarepuolikkaalle 1 404 000 solua/ml, KNS-infektoituneelle puolikkaalle 2 858 000 solua/ml ja korkeapatogeenisille infektioille (kuten *S. aureus* -bakteerinfektioille) 8 946 000 solua/ml (Poutrel & Lerondelle 1983). Poutrel ja Lerondelle (1983) eivät kuitenkaan pidä mahdottomana Coulter counter -menetelmän käyttöä utaretulehduksen diagnostiikassa, ja ehdottavat elintarvikkeeksi hyväksyttävälle maidolle soluluvun ylärajaksi tällä menetelmällä 1 000 000 solua/ml, jolloin havaittaisiin n. 80% korkeapatogeenisista infektioista. Tätä rajaa käytettäessä virhepositiivisten määrä olisi kuitenkin jopa 35% (Poutrel & Lerondelle 1983), mikä tekee rajan käytettävyyden kyseenalaiseksi.

DNA-spesifiset menetelmät ovat mittaukseen parempia, sillä vuohenmaito sisältää apokriinisen erityksen tuloksena myös paljon solun sytoplasmaa ja muita solunosia, jotka eivät sisällä DNA:ta, mutta tulkitaan silti useimmilla mittaamenetelmillä väärin somaattisiksi soluiksi. Fluoro-optisia menetelmiä (Fossomatic cell counter 1. FCC-menetelmää) ei suositella myöskään käytettäväksi liian korkeiden tulosten vuoksi (Matthews 2016), vaikka tämä onkin

DNA-spesifinen ja menetelmällä on ollut hyvä korrelaatio metyyliivihreä-pyroniini-Y-värjätyn suoramikroskopoinnin kanssa (Droke ym. 1993). Tällä menetelmällä saadut keskimääräiset soluluvut ovat olleet terveelle utarepuolikkaalle 614 000 solua/ml, KNS-infektoituneelle puolikkaalle 1 293 000 solua/ml ja korkeapatogeenisille infektioille 4 804 000 solua/ml (Poutrel & Lerondelle 1983), mitkä ovat muita menetelmiä korkeampia tuloksia. Mittausmenetelmää ovat kuitenkin käyttäneet esim. McDougall ym. (2014) laajamittaisessa tutkimuksessaan (n=4814), jossa on saatu korkeapatogeenisillä taudinaiheuttajilla infektioituneiden, matalapatogeenisilla taudinaiheuttajilla infektioituneiden ja terveiden utarepuolikkaiden välille tilastollisesti merkittävää eroa ($p<0,001$).

2.3 Taudinaiheuttajan diagnosoinnin yleisimmät menetelmät

Infektion aiheuttajan diagnosointiin käytetään yleisimmin joko yksittäisen maitonäytteen bakteeriviljelyä tai PCR-testiä. PCR-testi on maitonäytteen bakteeriviljelyä sensitiivisempi. Yksittäisen maitonäytteen bakteeriviljelyn sensitiivisyys (Se) ja spesifisyys (Sp) vaihtelevat todella paljon infektion määritettyjen raja-arvojen ja viljeltävän taudinaiheuttajan mukaan.

Bakteeriviljelmässä utareinfektion määritelmän raja-arvo tarkoittaa morfologisesti erilaisten pesäkkeiden määrää (puhdasviljelmä, kaksi morfologisesti erilaista kasvua, sekakasvu) sekä pesäkkeitä muodostavien yksiköiden (l. pmy) määrää, jotka vaaditaan kasvamaan bakteeriviljelmässä, jotta utare tulkitaan infektioituneeksi. Yleensä infektion raja-arvona käytetään yhtä morfologisesti erilaista pesäkettä ja yhtä pmy:ä. Kolme morfologisesti erilaista pesäkettä tulkitaan sekakasvuksi eikä enää infektioksi. Poikkeuksena KNS-infektioissa raja-arvona pidetään 5 pmy:ä. Alle 5 pmy:ä KNS-bakteeria sisältävät näytteet tulkitaan kontaminaationa, joka todennäköisesti johtuu epäonnistuneesta vetimen puhdistuksesta näytteenotossa (Honkanen-Buzalski & Seuna 1995). Näillä raja-arvoilla (≥ 1 pmy, ei puhdasviljelmä) ”mille tahansa organismille” bakteeriviljelyn sensitiivisyys ja spesifisyys ovat 85,8% ja 75,1%. Bakteeriviljelyn sensitiivisyys ja spesifisyys vaihtelevat viljeltävän bakteerin ja asetettujen infektion raja-arvojen mukaan (Dohoo ym. 2011).

Sekakasvun tai morfologisesti kahta erilaista pesäkettä sisältävän kasvun hyväksyntä diagnostiikassa myös nostaa sensitiivisyyttä, mutta laskee spesifisyyttä verrattuna vastaavaan puhdasviljelmään. Esimerkiksi bakteeriviljelyn sensitiivisyys *S. aureus* -bakteerin (raja-arvona

1 pmy) diagnosointiin morfologisesti erilaisia pesäkkeitä sisältävässä viljelmässä on 90,4% ja vastaava arvo puhdasviljelmässä on 68,8%, kun taas spesifisyys morfologisesti erilaisia pesäkkeitä sisältävässä viljelmässä on 99,8% ja vastaava arvo puhdasviljelmässä on 99,9%. Vastaavasti myös pesäkkeitä muodostavien yksiköiden lukumäärän diagnostinen raja-arvo vaikuttaa sensitiivisyyteen ja spesifisyyteen: useamman pmy:n vaatiminen utareinfektion diagnoosiin nostaa bakteeriviljelyn spesifisyyttä, mutta laskee sensitiivisyyttä (Dohoo ym. 2011).

Viljeltävä taudinaiheuttaja vaikuttaa myös paljon bakteeriviljelyn sensitiivisyyteen ja spesifisyyteen utareinfektioiden diagnostiikassa. Esimerkiksi *S. aureus* -bakteerin sensitiivisyys (90,4%) ja spesifisyys (99,8%) (raja-arvona 1 pmy, ei puhdasviljelmä) ovat korkeita verrattuna enterokokkeihin (Se 76,5% ja Sp 97,4%) tai KNS-bakteereihin (Se 80,9% ja Sp 86,7%) (Dohoo ym. 2011). *Mycoplasma* spp. -bakteerit taas eivät kasva normaalissa bakteeriviljelmässä laisinkaan, vaikka utare olisi mykoplasman infektoima (Contreras ym. 2003).

2.4 Utaretulehdukset

Utaretulehdus eli mastiitti määritellään utarekudoksen tulehdustilana eli inflammationsa, joka voidaan havaita maitonäytteen somaattisten solujen määrän eli soluluvun nousuna (White & Hinckley 1999). Useimmiten utaretulehdusta aiheuttavat erilaiset bakteerit, mutta inflammatio voi olla seurausta myös muusta kudosaivuriosta kuten kemiallisesta-, mekaanisesta- tai lämpövaivuriosta. Esimerkiksi sarvellisten vuohien puskeeminen voi aiheuttaa karjassa utaretulehduksia.

Utaretulehduksia voidaan luokitella eri luokkiin niiden keston ja oireiden perusteella. Keston perusteella utaretulehdukset luokitellaan yleensä perakuuttiin, akuuttiin ja krooniseen utaretulehdukseen. Oireiden perusteella utaretulehdukset luokitellaan yleensä oireileviin eli kliinisiin ja piileviin eli subkliinisiin utaretulehduksiin.

Taudinaiheuttajan aiheuttama utaretulehdus on infekcio (Berry & Meaney 2006). Infektioiden ilmaantuvuutta (l. insidenssiä) kasvattaa ikä, viereisen utarepuolikkaan tulehdus sekä karjakohtainen tautistatus (McDougall ym. 2014). Infektioiden esiintyvyys (l. prevalenssi)

kasvaa lypsykauden etenemisen myötä, mutta uusien infektioiden ilmaantuvuus on suurimmillaan lypsykauden alussa (McDougall ym. 2002, Bergonier ym. 2003, McDougall ym. 2014). McDougall ym. (2002) mukaan kuttujen lypsykauden alun ensimmäisenä 40 päivänä infektioiden ilmaantuvuus oli 0,039 tartuntaa/utarepuolikas/30 päivää (n=110, 6 karjaa). Lypsykauden alun tartunnoista 50% parantui itsestään. Tämän vuoksi lypsykauden alkuun pitäisi kiinnittää erityistä huomiota, jotta utaretulehdusten ilmaantuvuutta saataisiin karjassa pienemmäksi varsinkin, kun vain 50% tartunnoista parani itsestään (McDougall ym. 2002). Vuohenmaidon tuotannossa utaretulehdus on yleinen syy poistoihin, sillä iso osa infektiosta on kroonisia. Tämä lisää myös taloudellisia tappioita.

2.4.1 Bakteriperäiset utaretulehdukset

Vuohen terveellä iholla ja limakalvoilla on paljon gramnegatiivisia bakteereita, joille myös utarekudos altistuu usein. Tästä huolimatta vain 1% vuohipopulaation maitorauhasista on gramnegatiivisten bakteerien infektoimia, kun taas 15-55% on grampositiivisten bakteerien infektoimia (Dulin ym. 1983, Poutrel & Lerondelle 1983, Contreras ym. 1995). Stafylokokit ovat yleisimpiä infektioiden aiheuttajia, ja näistä *S. aureus* -bakteeria pidetään tärkeimpänä taudinaiheuttajana sen yleisyyden ja oireiden vuoksi (Haenlein 2002, Bergonier ym. 2003, Contreras ym. 2003, Marogna ym. 2012). KNS-tartunnat ovat myös yleisiä, ja näistä yleisimpiä ovat *S. epidermidis* sekä *S. caprae*. Stafylokokkien jälkeen yleisimpiä taudinaiheuttajia ovat yleensä *Streptococcus* spp. -bakteerit. Muita mahdollisia aiheuttajia ovat ainakin *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Pasteurella* spp., *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Bacillus* spp. ja *Actinomyces* spp. (Marogna ym. 2012).

Bakteerien ensisijainen lähde vaihtelee. Ensisijaisesti toisista eläimistä tarttuvia taudinaiheuttajia ovat stafylokokit, *Streptococcus agalactiae*, *Trueperella pyogenes* (entinen *Arcanobacterium pyogenes* sekä *Actinomyces pyogenes*) ja *Mannheimia haemolytica*. Ympäristöstä tarttuvia taudinaiheuttajia ovat enterobakteerit, enterokokit ja *Pseudomonas* spp. Merkittävimmät stafylokokit tarttuvat ensisijaisesti toisista eläimistä, joilla on piilevä tai krooninen infektio ja vetimen ihoinfektio, mutta niitä tarttuu myös rakenteista, makuupaikoista, lypsimestä, rehusta, ilmasta, hyönteisistä, laitteista ja ihmisten käsien välityksellä. Enterobakteerit ja enterokokit tarttuvat erityisesti kuivikkeista. *Pseudomonas* spp. tarttuu erityisesti vedestä tai kosteasta ympäristöstä. *S. uberis* sekä *S. suis* ovat tartuntalähteeltään

epäspesifisempiä ja tarttuvat usein sekä infektoituneista eläimistä että kuivikkeista ja ympäristöstä (Bergonier ym. 2003).

Utaretulehduksia aiheuttavien bakteerien joukkoa hankaloittavat tarttuvaa agalaktiaa aiheuttavat mykoplasmat. Mykoplasmat ovat pieniä soluseinättömiä bakteereita, jotka kliinistä utaretulehdusta aiheuttaessaan vähentävät maitotuotoksen määrää rajusti ja mahdollisesti myös pysyvästi. Tyypillisesti utaretulehdusten diagnostiikassa käytettävässä verimaljalle tehtävässä bakteeriviljelyssä mykoplasmat eivät kasva ollenkaan, minkä lisäksi bakteerien aiheuttamia utaretulehduksia vuohilla tutkittaessa näytteet tutkitaan vain harvoin mykoplasmojen varalta (Contreras ym. 2003). Mikrobilääkehoito ei tehoa mykoplasmojen aiheuttamiin utaretulehduksiin, minkä vuoksi mikrobilääkehoidon tehotessa huonosti utaretulehdukseen, pitäisi osata epäillä mykoplasmojen aiheuttamaa utaretulehdusta. Vuohilla tyypillisesti utaretulehdusta aiheuttavia mykoplasmoja ovat *M. agalctiae*, *M. mycoides* ssp. *capri* (eli suuripesäkkeinen *M. mycoides* ssp. *mycoides*), *M. capricolum* ssp. *capricolum* ja *M. putrefaciens* (Bergonier ym. 1997, Gómez-Martín ym. 2013). Mykoplasmat voidaan havaita PCR:llä, vasta-ainetesteillä (kaupallisilla ELISA-testeillä) ja erityisellä mykoplasma-tiljelyllä esim. Hayflick-maljalle tehtävällä erityisviljelyllä, jota inkuboidaan 7 päivää 37 °C:ssa (Tola ym. 1997, Bergonier ym. 1997, Amores ym. 2010, Gómez-Martín ym. 2013). Monille diagnostisille menetelmille on tärkeää, ettei maitonäyte pääse jäätymään (Gómez-Martín ym. 2013). Tarttuvan agalaktian diagnostiikkaa hankaloittaa myös ei-patogeenisten mykoplasmojen (kuten *M. yeatsii*, *M. cotewii* ja *M. auris*) mahdollinen esiintyminen karjassa, sillä esimerkiksi vasta-ainetestit ovat yleensä epäspesifisiä ja havaitsevat kaikkia mykoplasmoja vastaan muodostuneet vasta-aineet (Gómez-Martín ym. 2013). Näiden sekoittavien tekijöiden vuoksi tutkimuksessaan Gómez-Martín ym. 2013 pitävät PCR:n ja bakteeriviljelyn yhdistelmää parhaimpana menetelmänä tarttuvan agalaktian diagnosoinnissa. Tätä diagnostiikkaa voidaan käyttää sekä vuohen yksilötason tartuntaa tutkittaessa yksittäisen vuohen maitonäytteestä että karjan tartuntatilannetta tutkittaessa tankkimaidosta (Gómez-Martín ym. 2013). Utaretulehdusoireiden lisäksi mykoplasmainfektiioon liittyy yleensä keratokonjunktiviittia, artriittia, pneumoniaa tai abortteja (Contreras ym. 2003). Tämän vuoksi myös nivelnestettä, silmien, nenän tai korvien sivelnäytteitä, siemennestettä, utarekudosta, imusolmukkeita, keuhkojen leesioita tai aivokudosta voidaan tutkia mykoplasmojen varalta (Gómez-Martín ym. 2013). Oireeton kantaja voi erittää maidossaan mykoplasmoja vielä pitkään (Bergonier ym. 1997). Pääasiassa mykoplasmainfektiot leviävät karjasta toiseen ostoeläinten mukana. Karjan sisällä eläimestä toiseen tartunta leviää pääasiassa kosketuksen, imemisen ja lypsyn välityksellä

(Bergonier ym. 1997). Kirjoittajan tiedossa ole tutkimusta mykoplasmojen esiintyvyydestä suomalaisissa vuohissa. Mykoplasmojen aiheuttamat kliiniset utaretulehdukset ovat paikoittain yleisiä, ja varsinkin Välimeren alueella tarttuvaa agalaktiaa esiintyy endeemisenä (Contreras ym. 2003).

2.4.1.1 Kliiniset utaretulehdukset

Kliiniset utaretulehdukset aiheuttavat näkyviä oireita tai muutoksia maitoon. Kliinisen utaretulehduksen oireita voivat olla utareen näkyvät oireet (pustulat, ruvet, keratiiniset kohoumat, ulserat, nodulat, abskessit ja punoitus), palpoitavat oireet (kuumotus, kipu, paukamat, turvotus, kovettumat ja atrofia) ja maidontuoton makroskooppiset muutokset (herainen (seroosi), verinen, hiutaleinen ja märkäinen maito tai maidon herumattomuus) (Marogna ym 2012). Oireisiin voi kuulua myös suurentuneet imusolmukkeet. Utaretulehduksen oireet eivät aina kuitenkaan takaa patogeenin löytymistä maidosta. Tutkimuksessaan Marogna ym. (2012) havaitsivat bakteerikasvua vain 30,6%:ssa maidonäytteistä kuluilla, joilla oli ainakin yksi utaretulehduksen oire. Kullakin taudinaiheuttajalla on taipumusta aiheuttaa omanlaisiaan oireita. *S. aureus* -infektioon liittyy utareen pustuloita, ulseroita, noduloita, punoitusta tai kuolion muodostumista. *S. caprae* -infektioon liittyy utareen turvotus ja maidonerityksen puute. *S. uberis* -infektioon liittyy utarekudoksen surkastuminen ja utareimusolmukkeiden reaktio (Marogna ym. 2012).

Kliinisten utaretulehdusten ilmaantuvuus on yleensä alle 5% vuodessa (Bergonier ym. 2003). *S. aureus* -bakteeri on tärkein kliinisen utaretulehduksen aiheuttaja. Se voi aiheuttaa nekroottista utaretulehdusta, joka voi olla erittäin vakavaoireinen tai jopa kuolemaan johtava (Contreras ym. 2003). Lisäksi se luetaan korkeapatogeenisiin taudinaiheuttajiin ja saa aikaan soluluvussa merkittävästi korkeampaa nousua moniin muihin matalapatogeenisempiin taudinaiheuttajiin nähden (Poutrel & Lerondelle 1983, Luengo ym. 2004, McDougall ym. 2014, Persson ym. 2015). Vakavissa *S. aureus* -infektioissa suositellaan infektoituneen eläimen poistoa. Epidemiologisesti hankalaksi *S. aureus* -infektion tekevät emän kautta infektoituneet kilit, jotka muita kuttuja imiessään levittävät infektiota (Contreras ym. 2003).

Muita tyypillisiä kliinisen utaretulehduksen aiheuttajia ovat esimerkiksi streptokokit, mykoplasmat, joskus gramnegatiiviset basillit ja joskus osa KNS-bakteereihin kuuluvista bakteereista kuten *S. caprae*. Gramnegatiivisista basilleista tyypillisimpiä aiheuttajia ovat

Escherichia coli sekä *Pseudomonas aeruginosa* -bakteerit. Yleensä ne aiheuttavat vuohilla vakavaa akuuttia kliinistä utaretulehdusta. Lehmiin verrattuna vuohilla on vähemmän gramnegatiivisten basillien aiheuttamia utaretulehduksia, minkä on arveltu johtuvan osittain myös vuohien korkeasta soluluvusta ja maidon neutrofiilimäärästä, joka suojaisi utaretta joitain ympäristöperäisiä taudinaiheuttajia vastaan. Toisaalta vuohien pito-olosuhteet ovat usein lehmiin verrattuna kuivemmat ja aurinkoisemmat, mikä voi vähentää kosteissa kuivikkeissa viihtyvien taudinaiheuttajien kuten *Pseudomonas spp.* -bakteerien määrää (Contreras ym. 2003).

Harvinaisempana vuohilla tavataan myös grampositiivisia basilleja. Näistä *Trueperella pyogenes* (entinen *Arcanobacterium pyogenes* sekä *Actinomyces pyogenes*) aiheuttaa kliinistä mastiittia (Contreras ym. 2003).

2.4.1.2 Piilevät utaretulehdukset

Piilevät utaretulehdukset ovat kliinisesti oireettomia utaretulehduksia, ja ne aiheuttavat suuria taloudellisia tappioita vaikuttamalla maidon laatuun sekä määrään. Yleensä piilevä utaretulehdus havaitaan soluluvun nousuna sekä taudinaiheuttajien esiintymisenä maidossa. Taudinaiheuttajista bakteerit ovat piilevien utaretulehdusten yleisimpiä aiheuttajia. Soluluvun nousu ja bakteerien esiintyminen maidossa heikentävät maidon laatua, minkä lisäksi tulehdustila tyypillisesti vähentää tuotetun maidon määrää.

Piilevästi tulehtuneen utarepuolikkaan keskimääräiseksi soluluvuksi DeLaval DCC solulaskurilla on saatu 711 000 solua/ml (Persson & Olofsson 2011). Toisaalta Bagnicka ym. (2011) löysivät tutkimuksessaan jopa 20%:sta soluluvultaan alhaisista (alle 100 000 solua/ml) näytteistä bakteereja, mutta heidän tutkimuksessaan käytettiin virtaussytometriaan perustuvaa Bactocount-mittaria (Bentley IBCm, Bentley Instruments, USA). Taudinaiheuttajien patogeenisuuden suuren vaihtelun ja mittausmenetelmien välisten erojen vuoksi on hankala määrittää luotettavaa raja-arvoa piilevään infektiin viittaavalle soluluvulle.

Maisin (1990) mukaan piilevien utaretulehdusten esiintyvyys vuohilla Suomessa on 20,1% (n=39). Kaikki Maisin (1990) tutkimuksessa havaitut taudinaiheuttajat olivat stafylokokkeja. Ruotsissa on tehty tuoreempi tutkimus, jossa on saatu piilevien utaretulehdusten

esiintyvyydeksi 18% (Persson & Olofsson 2011), mikä saattaa olla lähellä Suomen esiintyvyyttä kuttujen samankaltaisten pito-olosuhteiden sekä tautitilanteen vuoksi.

Taudinaiheuttajien esiintyvyydet vaihtelevat paljon myös karja- ja aluekohtaisesti. Piilevien utaretulehdusten esiintyvyyksiä eri maissa on esitetty taulukoissa 2, 3 ja 4. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit (KNS) ovat yleisimpiä piilevien utaretulehdusten aiheuttajia (Contreras ym. 2003, Bagnicka ym. 2011, McDougall ym. 2014, Zhao ym. 2015). Ne aiheuttavat yleensä pysyvän piilevän tartunnan (Poutrel 1984, Contreras ym. 1997, Moroni ym. 2005, Contreras ym. 2003). Yleisesti vuohilla tavattavia KNS-bakteereita ovat esim. *S. caprae*, *S. epidermidis*, *S. xylosus*, *S. simulans* ja *S. chromogenes* (Contreras ym. 2003).

S. aureus on tunnettu klinisen utaretulehduksen aiheuttaja, mutta se voi aiheuttaa myös piileviä utaretulehduksia. Piileviä utaretulehduksia aiheuttaessaan se nostattaa soluluvun (solutestillä mitattuna) noin kolminkertaiseksi terveeseen utareeseen nähden eli soluluvun nousu on yhtä suuri kuin klinisissä utaretulehduksissa. Sitä pidetään korkeapatogeenisimpana piilevien utaretulehdusten aiheuttajana (Maisi & Riipinen 1991). Vuohilla tavattava *S. aureus* -tartunta ei ole yhtä herkästi yksilöstä toiseen tarttuva, mitä se on lehmillä (Contreras ym. 2003).

Streptokokkeja ja gramnegatiivisia basilleja ei esiinny paljon piilevänä, mutta niiden mahdollinen esiintyminen liittyy yleensä huonoon hygieniatasoon eläintenpitotiloissa sekä lypsyasemalla (Contreras ym. 2003). Vuohilla streptokokit aiheuttavat vain harvoin piilevää utaretulehdusta ja niitä tavataan enemmän klinisissä utaretulehduksissa. Streptokokkitartunta on yleensä ympäristöperäinen ja liittyy erityisesti makuualustojen huonoon hygieniaan (Contreras ym. 2003).

S. hyicus aiheuttaa piilevää utaretulehdusta vain harvoin yksin. Yleensä se on mukana sekainfektioissa, ja sitä pidetään merkitykseltään vähäisempänä taudinaiheuttajana (Maisi & Riipinen 1991). Muut stafylokokit ovat piilevien utaretulehdusten taudinaiheutuskyvyltään keskivertoja.

Harvinaisempana vuohilla tavataan myös grampositiivisia basilleja, joista *Corynebacterium* spp. -bakteerit aiheuttavat piileviä tartuntoja (Contreras ym. 2003). Grampositiivisten basillien ryhmään kuuluu myös *Bacillus* spp. Kalogridou-Vassiliadou (1991) Kreikassa tekemässä tutkimuksessa piilevien utaretulehdusten esiintyvyys oli todella korkea (65%:ssa

maitonäytteistä havaittiin taudinaiheuttajia), minkä arveltiin osittain johtuvan huonosta hygieniatasosta. Tutkimuksessa varsinkin yleensä vuohilla harvoin tavattavien *Bacillus* spp. -bakteerien määrä vaihteli paljon karjakohtaisesti (16,6-65,9% esiintyvyys karjasta riippuen) näiden hygieniatason mukaan.

Taulukko 2. Piilevien utaretulehdusten taudinaiheuttajien esiintyvyyksiä Skandinaviassa. KNS = koagulaasinegatiiviset stafylokokit

Piilevien utaretulehdusten esiintyvyys (tutkittu materiaali)	Taudinaiheuttaja	Osuus positiivisista näytteistä	Valtio (viite) ja muita huomioita
20,1% (198/962 maitonäytettä, 39 vuolta, karjojen lukumäärä ei tiedossa)	<i>Staphylococcus</i> spp. KNS <i>S. intermedius</i> <i>S. hyicus</i> <i>S. aureus</i>	100% 58% 26,3% 11,6% 4,1%	Suomi (Mäki 1990): maitonäytteitä ei tutkittu mykoplasmojen varalta.
18% (39/222 maitonäytettä, 222 vuolta, karjojen lukumäärä ei tiedossa)	KNS <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	72% 23% 5%	Ruotsi (Persson & Olofsson 2011)
15% (158/1033 maitonäytettä, 134/521 vuolta [26% vuohista], 16 karjaa)	KNS <i>S. aureus</i> <i>Bacillus</i> spp. (<i>ei cereus</i>) <i>Enterobacter cloacae</i> <i>B. cereus</i> <i>Str. uberis</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. (<i>ei uberis</i> , <i>ei agalactiae</i>) <i>Str. agalactiae</i> <i>Pantoea</i> spp.	80% 8% 3,2% 3,2% 1,3% 1,3% 1,3% 1,3% 0,63% 0,63%	Ruotsi (Persson ym. 2015)

Taulukko 3. Piilevien utaretulehdusten taudinaiheuttajien esiintyvyyksiä Euroopassa. KNS = koagulaasinegatiiviset stafylokokit, KPS = koagulaasiposiitiviset stafylokokit

Piilevien utaretulehdusten esiintyvyys (tutkittu materiaali)	Taudinaiheuttaja	Osuus positiivisista näytteistä	Valtio (viite) ja muita huomioita
65% (1127/1350 maitonäytettä, 90 vuohta, 3 karjaa)	<i>Staphylococcus</i> spp.	59,1%	Kreikka (Kalogridou-Vassiliadou 1991)
	KNS	35,7%	
	<i>S. aureus</i>	10,7%	
	<i>S. hyicus</i> subsp. <i>hyicus</i>	7,1%	
	<i>S. intermedius</i>	5,6%	
	<i>Bacillus</i> spp.	29,9%	
	<i>B. coagulans</i>	10,3%	
	<i>B. licheniformis</i>	7,0%	
	koliformit	4,3%	
	<i>Micrococcus</i> spp.	2,6%	
	<i>Streptococcus</i> spp.	1,9%	
	<i>Corynebacterium</i> spp.	1,5%	
	<i>Pseudomonas</i> spp.	0,7%	
18% (68/365 maitonäytettä, 188 vuohta, 10 karjaa)	<i>Staphylococcus</i> spp.	71%	Espanja (Contreras ym. 1996)
	KNS	69,6%	
	KPS	1,4%	
	<i>Corynebacteria</i>	12%	
	<i>Mycoplasma</i> spp.	9%	
	<i>Enterobacteria</i> ,	8%	
	<i>Pasteurella</i> spp.,		
	<i>Streptococcus</i> spp. ja		
	hiivat		
35,1% (171/487 maitonäytettä, 66 vuohta, 1 karja)	KNS	72%	Puola (Bagnicka ym. 2011): 3 eri poikittaistutkimusta.
	<i>S.aureus</i>	13%	
	<i>Streptococcus</i> spp.	8%	
	<i>S. intermedius</i>	2,7%	
	<i>S. agalactiae</i>	2,1%	
	<i>Corynebacterium</i> spp.	1,4%	
	<i>Enterococcus</i> spp.	1,4%	
28,7% (1388 maitonäytettä, 1388 vuohta, 31 karjaa)	<i>Staphylococcus</i> spp.	73,5%	Italia (Marogna ym. 2012): tutkittavat tilat olivat ”ongelmatiloja”. Esiintyvyydessä myös utareeltaan makroskooppisesti muuttuneita yksilöitä.
	<i>Streptococcus</i> spp.	9,7%	
	<i>Mycoplasma</i> spp.	4,7%	
	<i>Pseudomonas</i> spp.	2,5%	
	<i>Pasteurella</i> spp.	1,6%	
	Muut	6,5%	

Taulukko 4. Piilevien utaretulehdusten taudinaiheuttajien esiintyvyyksiä Euroopan ulkopuolella. KNS = koagulaasinegatiiviset stafylokokit

Piilevien utaretulehdusten esiintyvyys (tutkittu materiaali)	Taudinaiheuttaja	Osuus positiivisista näytteistä	Valtio (viite) ja muita huomioita
23,3% (1122/4814 maitonäytettä, 624 vuohta, 18 karjaa)	KNS	58,0%	Uusi-Seelanti (McDougall ym. 2014)
	<i>Corynebacterium</i> spp.	31,5%	
	<i>S. aureus</i>	3,8%	
	<i>Streptococcus</i> spp.	2,4%	
	maljalla 2 eri kasvustoa	2,0%	
	Gramnegatiiviset	1,5%	
	sauvat (n=2), <i>Bacillus</i> spp. (n=2), hiivat ja sienet (n=7), <i>Proteus</i> spp. (n=2), <i>Enterococcus</i> spp. (n=1), <i>Nocardia</i> spp. (n=1)		
	Gramnegatiiviset	0,7%	
	sauvat (<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Serratia</i> spp.)		
	KNS	59,52%	Kiina (Zhao ym. 2015): solutestillä on ensin testattu ”positiiviseksi” 313/683 vuohta, joista positiivisista otettu 209 näytettä. mPCR diagnostiikassa.
	<i>S. aureus</i>	15,24%	
	<i>E. coli</i>	11,43%	
45,82% (209 maitonäytettä, solutestissä ”positiivisia”, 313/683 vuohta, 7 karjaa)	<i>Streptococcus</i> spp.	10,95%	

2.5 Utaretulehduksen riskitekijöitä

Taudinaiheuttajat leviävät pääasiassa lypsyssä. Utareen altistumista taudinaiheuttajille tapahtuu esimerkiksi, kun lypsimet irrotetaan manuaalisesti ilman imun katkaisemista ennen irrotusta. Tyhjälypsy voi myös altistaa infektiolle, mutta terve utare kestää sitä jonkin verran. Bakteerit tarttuvat myös nännikumiin ja siirtyvät siitä eläimestä toiseen (Bergonier ym. 2003). Vääränlainen lypsykoneen käyttö ja huonot lypsykäytännöt liittyvät erityisesti korkeaan KNS-infektioiden esiintyvyyteen karjassa. Utarehygienian parantamiseksi ja KNS-infektioiden

esiintyvyyden vähentämiseksi olisi hyvä käyttää lypsyn jälkeen vedinkastoa, jonka tehoaineena olisi esim. jodia tai klooriheksidiiniä (Contreras ym. 2003).

Toinen suuri tartunnan riskitekijä on ympäristön huono hygieniataso. Huono hygieniataso pito-olosuhteissa ja lypsyssä altistaa varsinkin streptokokkien ja gramnegatiivisten basillien aiheuttamille infektioille (Contreras ym. 2003).

Infektioherkkyyden on todettu kasvavan myös poikimakertojen myötä – erityisesti 3. ja 4. lypsykausi ovat kutun infektoitumiselle riskitekijöitä (Moroni ym. 2005). Infektioherkkyyden on myös todettu kasvavan jokaisen lypsykauden loppua kohti (Moroni ym. 2005), mikä toisaalta on ristiriidassa infektioiden ilmaantuvuuden kanssa, joka on suurimmillaan lypsykauden alussa (McDougall ym. 2014).

S. caprae -infektion riskitekijöitä ovat lypsytekniikka (käsinylpy verrattuna konelypsyyn) ja ikä. *S. epidermidis* -infektion riskitekijäksi on todettu ikä. *S. uberis* -infektion riskitekijäksi on todettu konelypsy (Marogna ym. 2012).

Utaretulehdusalttiuden ja maidon solupitoisuuden on todettu olevan jossain määrin myös perinnöllistä (Bergonier ym. 2003). Tämän lisäksi on paljon tekijöitä, jotka kasvattavat solulukua altistamatta kuitenkaan infektioille. Lypsykoneen alipaineen kasvatuksen on todettu myös lisäävän maidon solulukua, mutta ei altistavan taudinaiheuttajille (Lu ym. 1991, Sinapis ym. 2000). Lisäksi CAE-virusinfektio kasvattaa solulukua, mutta ei altista bakteeri-infektioille (Sánchez ym. 2001, Luengo ym. 2004).

3 AINEISTO JA MENETELMÄT

3.1 Tutkitut eläimet

Kaikki tutkimuksessa käytetyt eläimet olivat saman tilan lypsykuttuja. Tila sijaitsi Etelä-Suomessa Uudenmaan maakunnassa. Tila oli vielä suhteellisen uusi ja tutkimushetkellä tilalla eläimet olivat olleet lypsyssä vuoden ja 2 päivää. Tilalla oli lähes 1200 vuolta, joista lypsäviä kuttuja lähes 700 ja loput eläimet nuorkarjaa. Tilalla oli myös n. 10 pukkia. Suomenvuohia oli Suomessa tutkimusvuotena 2018 n. 5400 yksilöä (SVT 2019), jolloin tilan lähes 1200 yksilöä kattoi n. 22% koko Suomen vuohipopulaatiosta, ja vastaavasti tilan lähes 700 lypsävää kuttua kattoi lähes 13% Suomen vuohipopulaatiosta. Tilan lypsävät kutut oli jaettu neljään osastoon; nupojen kuttujen, viimeisimpänä poikineiden kuttujen ja astutettavien/umpeutettavien kuttujen osasto, minkä lisäksi loput näihin osastoihin kuulumattomat kutut oli jätetty yhdeksi isoksi osastoksi (n. 250-270 kutun osasto). Tilan eläimet lypsettiin lypsyasemalla DeLavalin lypsykoneella kaksi kertaa päivässä. Tutkimushetkellä osa tilan eläimistä oli ummessa tai jäämässä umpeen, minkä vuoksi osa lypsettiin vain kerran päivässä. Tilan lypsykäytäntöihin kuului esivalmistelussa utareen pyyhintä vedellä kostutetulla rätillä. Esivalmisteluun ei kuulunut alkusuihkeita. Lypsykoneistossa oli lypsinten automaatti-irrotus. Lypsyn jälkeen ei käytetty vedinkastoa tai -sprayta. Tilalla käytettiin olki- tai turvekuivitusta saatavuuden mukaan. Eläimet söivät seosrehua.

Tilan tankkimaidosta määritettiin säännöllisesti maidon rasva- ja valkuaisprosentti (molemmat olivat 3,4% marraskuussa 2017), bakteerien määrä sekä ureapitoisuus. Tilalla esiintyneet yksittäiset kliiniset utaretulehdukset oli määritetty bakteeriviljelyllä, ja niiden mukaan tilalla oli esiintynyt ainakin *S. aureus* ja *E. coli* -taudinaiheuttajia. Näiden lisäksi klinisiä utaretulehduksia oli syntynyt utareen mekaanisista vaurioista, joita lähinnä sarvipäisten kuttujen puskeminen oli aiheuttanut.

3.2 Näytemäärä

Näytemäärän laskemisessa käytettiin Epitools epidemiological calculators -sivustoa (Sergeant 2018). Menetelmässä näytemäärän laskemiseen tarvitaan taudinaiheuttajien oletettu esiintyvyys (l. prevalenssi), tarkkuus (engl. precision) ja luottamustaso (engl. confidence level).

Taudinaiheuttajien oletetun esiintyvyyden arvioinnissa käytettiin Ruotsin viime vuosien piilevien taudinaiheuttajien esiintyvyyksiä 18% (Persson & Olofsson 2011) ja 15% (Persson ym. 2015) ja Suomessa vuonna 1990 tutkittua taudinaiheuttajien esiintyvyyttä 20,1% (Maisi 1990). Näiden perusteella lypsykauden loppupuolella olevien vuohien piilevien utaretulehdusten taudinaiheuttajien esiintyvyys arvioitiin olevan välillä 20-25%, joten näytemäärän laskemisessa käytettiin oletettua esiintyvyyttä 20%. Tarkkuudella 10% ja luottamustasolla 95% tarvittavaksi näytemääräksi piilevien taudinaiheuttajien esiintyvyyden määrittämiseksi saatiin 62 kappaletta. Näytemäärän vaihtelua tarkkuuden ja oletetun esiintyvyyden mukaan esitetty taulukossa 5.

Taulukko 5. Tarvittava näytemäärä luottamustasolla 0,95 halutun tarkkuuden ja oletetun esiintyvyyden mukaan vaihdellen.

Tarkkuus	Oletettu esiintyvyys (l. prevalenssi)				
	0,01	0,02	0,05	0,1	0,2
0,01	381	753	1 825	3 458	6 147
0,02	96	189	457	865	1 537
0,05	16	31	73	139	246
0,1	4	8	19	35	62
0,2	1	2	5	9	16

Tutkimus ja näytteidenotto suoritettiin aamulypsyllä, jolloin lypsykoneen mukaan lypsyssä oli 518 eläintä. Näytteitä kerättiin yhteensä 60 eläimestä ja 118 utarepuolikkaasta eli lypsettävistä eläimistä tutkittiin 11,6%. Tutkittavien yksilöiden satunnaistamiseksi arvottiin tutkittavien eläinten paikkanumerot lypsyasemalla etukäteen.

3.3 Tutkimusmenetelmät

Kaikkien tutkimuksessa käytettävien eläinten kohdalla toimittiin samalla tavalla. Ennen aamulypsytä utare tutkittiin mahdollisten muutosten varalta visuaalisesti tarkastamalla ja palpoimalla, minkä jälkeen maito tarkastettiin silmämääräisesti makroskooppisten muutosten varalta ja tehtiin maidolle solutesti. Lopuksi otettiin maitonäyte bakteeriviljelyä varten. Lisäksi jokaiselta tutkitulta eläimeltä kirjattiin ylös aamulypsyllä lypsetty maitomäärä ja selvitettiin

mahdollisuuksien mukaan eläimen ikä, poikimakerta ja kulunut aika viimeisimmästä poikimisesta.

Visuaalisessa arvioinnissa kiinnitettiin huomiota erityisesti utaretulehdukseen viittaaviin muutoksiin (traumat, punoitus, turvotus, jne.) sekä utareen malliin, vetimien kokoon ja vetimien kärkien malliin. Palpaatiossa havainnoitiin erityisesti kipua, kuumotusta, turvotusta, kovettumia, atrofioita ja suurentuneita imusolmukkeita. Maidon visuaalisessa arvioinnissa maidon koostumusta arvioitiin heraisen, verisen, hiutaleisen tai märkäisen eritteen varalta. Solutestin tekemiseen käytettiin alkusuihkeita, joista arvioitiin kummankin vetimen maito erikseen somaattisten solujen määrän selvittämiseksi. Solutestin arvioinnissa käytettiin viisiportaista arviointiasteikkoa. Tulokset 1-5 tulkittiin seuraavasti: tulos 1 = alle 100 000 solua/ml, tulos 2 = 100 000-250 000 solua/ml, tulos 3 = 250 000-500 000 solua/ml, tulos 4 = 500 000-4 000 000 solua/ml ja tulos 5 = yli 4 000 000 solua/ml. Maitonäytteiden ottamiseksi vetimet puhdistettiin etanolipohjaiseen Desinfektol P -desinfektioaineeseen kostutetulla pumpulilla ja molemmista utarepuolikkaista otettiin aseptisesti maitonäytteet omiin maitonäyteputkiinsa. Näytteet kuljetettiin jäähdytettynä laboratorioon bakteeriviljelyä varten. Kaikki näytteet viljeltiin 12 tunnin sisällä näytteenotosta. Viljelyn jälkeen kaikista maitonäytteistä mitattiin soluluku DeLaval DCC solulaskurilla.

Maitonäytteet viljeltiin Yliopistollisen eläinsairaalan Saaren yksikön mikrobiologisessa laboratoriossa, jossa utaretulehduksen bakteriologisessa diagnostiikassa sovelletaan muunnosta teoksesta "Isolation and identification of pathogens from milk" (Honkanen-Buzalski & Seuna 1995). Maitonäyteputkesta otettiin steriilillä kertakäyttöisellä 10 µl muovisilmukalla maitoa, joka levitettiin hajotusviljelmänä lampaanveriagarille (LAMMASVERI agar, Tammer-Tutkan Maljat Oy). Maljat puolitettiin ja kullekin puolikkaalle viljeltiin yhden vetimen näyte, pyrkien saamaan yhden yksilön puolikkaat samalle maljalle. Maljaa inkuboitiin aerobisissa olosuhteissa $+37 \pm 1$ °C:ssa 18h ennen alustavaa analysointia sekä lisädiagnostiikan tekoa. Lopulliset tulokset tulkittiin 42h inkuboinnin alusta.

Bakteerien lajinmääritys aloitettiin tarkastelemalla bakteerien pesäkemorfologiaa, hajua ja mahdollista hemolyysiä. Mikäli maljalla kasvoi yli kahta morfologisesti erilaista pesäkettä, tulkittiin näyte sekakasvuksi, eikä jatkotutkimuksia suoritettu. Morfologisesti enintään kahdenlaista pesäkettä kasvavilla maljoilla taudinaiheuttajat määritettiin tarkemmin. Utarepuolikas tulkittiin infektoituneeksi, jos maljalla kasvoi yksikin pesäkettämuodostava

yksikkö (pmy). Poikkeuksena KNS-infektioissa alle 5 pmy:ä sisältävät näytteet tulkittiin negatiivisiksi, ja kasvu johtuvaksi todennäköisesti epäonnistuneesta vetimen puhdistuksesta näytteenotossa. Bakteerien lajimääritystä jatkettiin tekemällä tutkittaville bakteereille katalaasitesti, jossa objektilasilla tarkastellaan bakteeripesäkkeen ja 3-5% vetyperoksidiliuoksen välistä kuohuntareaktiota. Kuohuntareaktio viittaa bakteerin kykyyn muodostaa peroksiedeja hajottavaa katalaasientsyymiä, jolloin bakteeri on katalaasipositiivinen. Testin jälkeen bakteerit mikroskoipoitiin tarkastellen bakteerien solumorfologiaa ja ryhmittymistä. Pesäkemorfologian, katalaasitestin ja mikroskopoinnin perusteella bakteerikasvuille suoritettiin lisätutkimuksia alustavan bakteriologisen diagnoosin mukaan.

Katalaasipositiivisille ja pesäkemorfologialtaan stafylokokkityypisille kokeille suoritettiin koagulaasitesti (BD BBL™ Coagulase Plasma, Rabbit) sekä herkkyysmääritys eli beetalaktamaasitesti (Nitrocefin, Oxoid). Yhdeksässä näytteessä oli stafylokokkityypistä bakteerikasvua, joille testit suoritettiin. Koagulaasitestillä testataan bakteerin kykyä tuottaa koagulaasia, joka muuttaa plasman fibrinogeenia fibriniiniksi muodostaen hyytymän testiputkeen. Tällä saadaan eroteltua koagulaasipositiivinen *S. aureus* -bakteeri koagulaasinegatiivisista stafylokokkeista. Kaikki koagulaasitestien tulokset olivat negatiivisia eli maljojen kasvut olivat koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja eli KNS-bakteereita. Herkkyysmääityksessä testattiin bakteerien kykyä pilkkoa tai inaktivoida mikrobilääkkeiden beetalaktaamirakenteita, joita esimerkiksi penisilliineissä ja kefalosporiineissa on. Positiivinen tulos viittaa yleensä bakteerin kykyyn pilkkoa beetalaktaameja beetalaktamaasientsyymillä, jolloin bakteeri on resistentti beetalaktaamirakenteita sisältäville mikrobilääkkeille. Yhdeksästä testatusta KNS-kasvusta kaksi olivat positiivisia eli herkkyysmääityksessä resistenttejä. Loput seitsemän KNS-kasvua olivat herkkiä beetalaktaamiantibiooteille.

Katalaasinegatiivisten kokkityypisten bakteerien erottelemiseksi *Streptococcus* spp. ja *Enterococcus* spp. -bakteereiksi suoritettiin jatkoviljelmä Edwardsin agarille (EDWARDS agar, Tammer-Tutkan Maljat Oy). Kahdessa näytteessä oli eroteltavaa kasvua ja molemmat jatkoviljeltiin. Edwardsin agarille jatkoviljellyt bakteerit kasvoivat tummana eli ne olivat eskuliinipositiivisia, minkä vuoksi niille suoritettiin sappieskuliinitesti (Bile Esculin, Diatabs™, Rosco Diagnostica) niiden erottelemiseksi *Enterococcus* spp. ja *Streptococcus uberis* -bakteereiksi. Molemmat näytteet muuttuivat sappieskuliinitestin mustaksi, mikä viittasi bakteerien olevan *Enterococcus* spp. -bakteereita.

3.4 Tilastolliset menetelmät

Tilastollisissa analyyseissä käytettiin STATA/MP 15.1 sovellusta. Tutkituista 60 kutusta saatiin luotettavasti kerättyä sekä syntymä- että poikima-ajat vain 32 kutulta, minkä vuoksi niiden yhteyttä muihin muuttujiin ei analysoitu.

Tilastoissa on tarkasteltu bakteriologisen viljelyn tuloksia suhteessa DeLaval DCC solulaskurin tuloksiin. Vastaava tarkastelu tehtiin myös solutestitulosten ja viljelyn tulosten välillä. Samalla on tarkasteltu DeLaval DCC solulaskurin tulosten ($\times 10^3$ solua/ml) yhteneväisyyttä solutestien (1-5) tuloksiin.

4 TULOKSET

Piilevien utaretulehdusten esiintyvyydeksi maitonäytteissä saatiin tutkimuksessa 9,3% (11/118 kpl). Tutkituista eläimistä yhdeksällä oli infektiota 15% (9/60 kpl) oli infektoitunut. Bakteriviljelyssä havaituista taudinaiheuttajista suurin osa (82%) oli KNS-bakteereita ja loput *Enterococcus* spp. -bakteereita. Tarkemmat tulokset ja KNS-bakteerien herkkyysmääritykset on esitetty taulukossa 6.

Taulukko 6. Piilevien utaretulehdusten taudinaiheuttajien esiintyvyys. KNS = koagulaasinegatiiviset stafylokokit

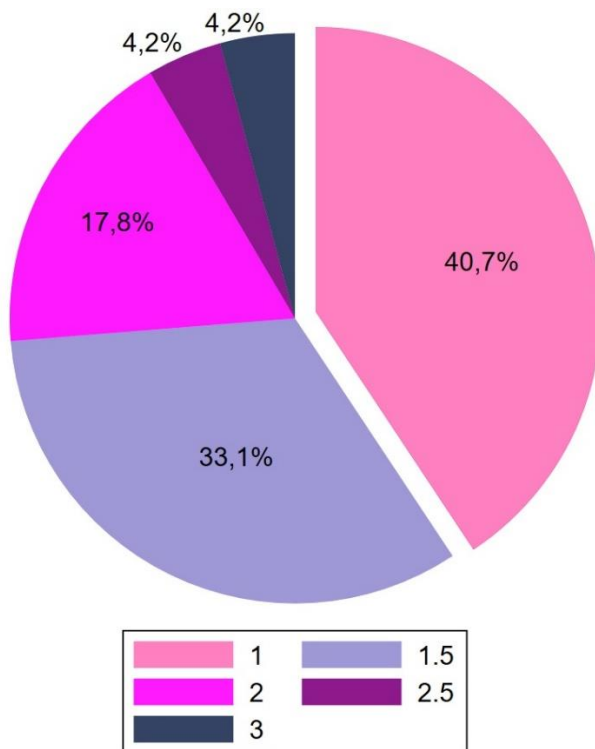
Piilevien utaretulehdusten esiintyvyys (tutkittu materiaali)	Taudinaiheuttaja	Osuus positiivisista näytteistä	Muita huomioita
9,3% (11/118 maitonäytettä, 60 vuolta, 1 karja)	KNS <i>Enterococcus</i> spp.	82% 18%	22% (2/9 kpl) KNS-bakteereista beetalaktamaasipositiivisia eli resistenttejä kantoja

Yhdelläkään tutkituista kutuista ei ollut visuaalisia muutoksia maidossa. Tutkituilla kutuilla keskimääräinen lypsetty maitomäärä oli 1,18 litraa, vaihdellen 0,44 litran ja 2,17 litran välillä. Mitatut maitomäärät on esitetty taulukossa 7 muiden mitattujen suureiden kanssa. Maitomäärän kasvaessa havaitaan solulaskurilla mitatussa soluluvussa lievää laskua.

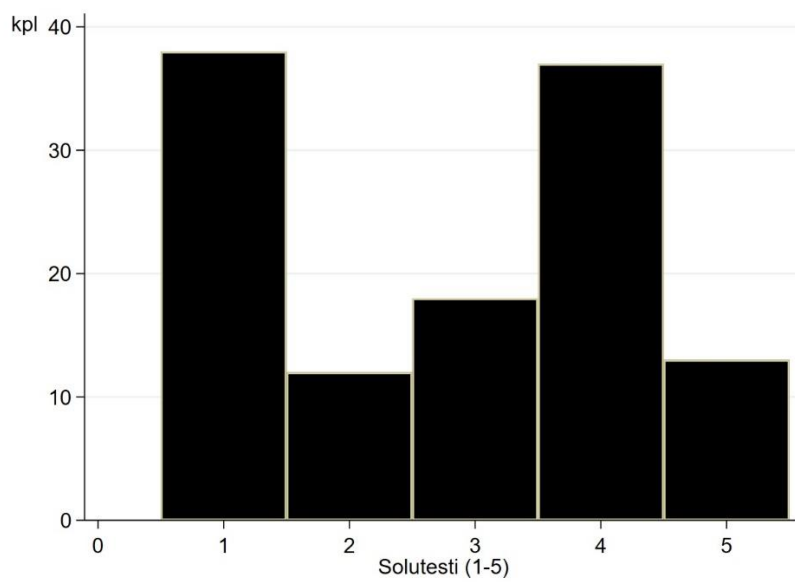
Taulukko 7. Tutkimuksessa mitattujen suureiden kuvailua.

Ominaisuus	n	Keskiarvo	Min	Max	Keskihajonta
Maitomäärä (l)	116	1,18	0,44	2,17	0,42
Solutesti (1-5)	118	2,8	1	5	1,5
DCC solulukku ($\times 10^3$ solua/ml)	117	1 254	7	6 917	1 617
Vetimenpää (1-3)	118	1,5	1	3	0,49

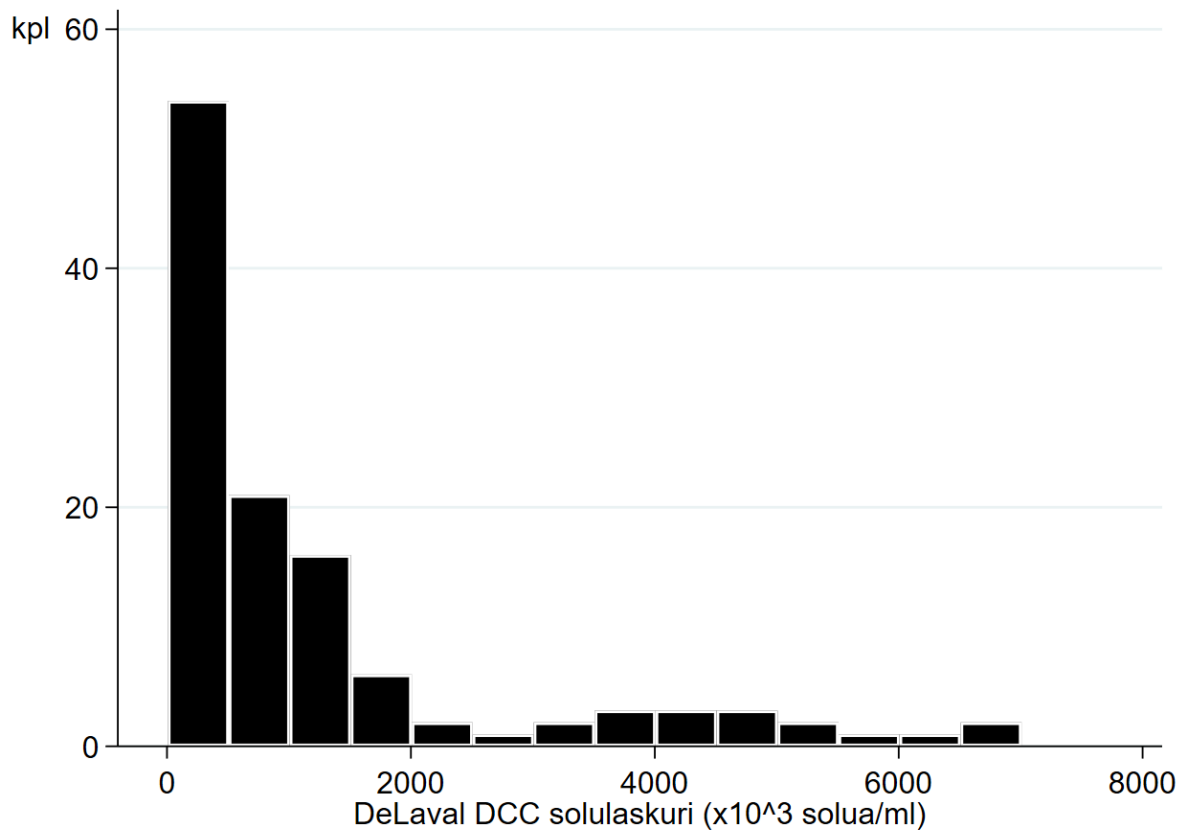
Suurin osa (73,7%) luokitetuista vetimenpäistä kuului luokkaan 1-1,5 asteikolla 1-3. Tarkemmat vetimenpäiden luokituksen tulokset esitetty kuvassa 2. Tutkimuksessa mitatut solutestitulokset (1-5) sekä DeLaval DCC solulaskurin tulokset ($\times 10^3$ solua/ml) on esitetty kuvissa 3 ja 4.



Kuva 2. Vetimenpäiden kuntoluokituksen tulokset (1-3).

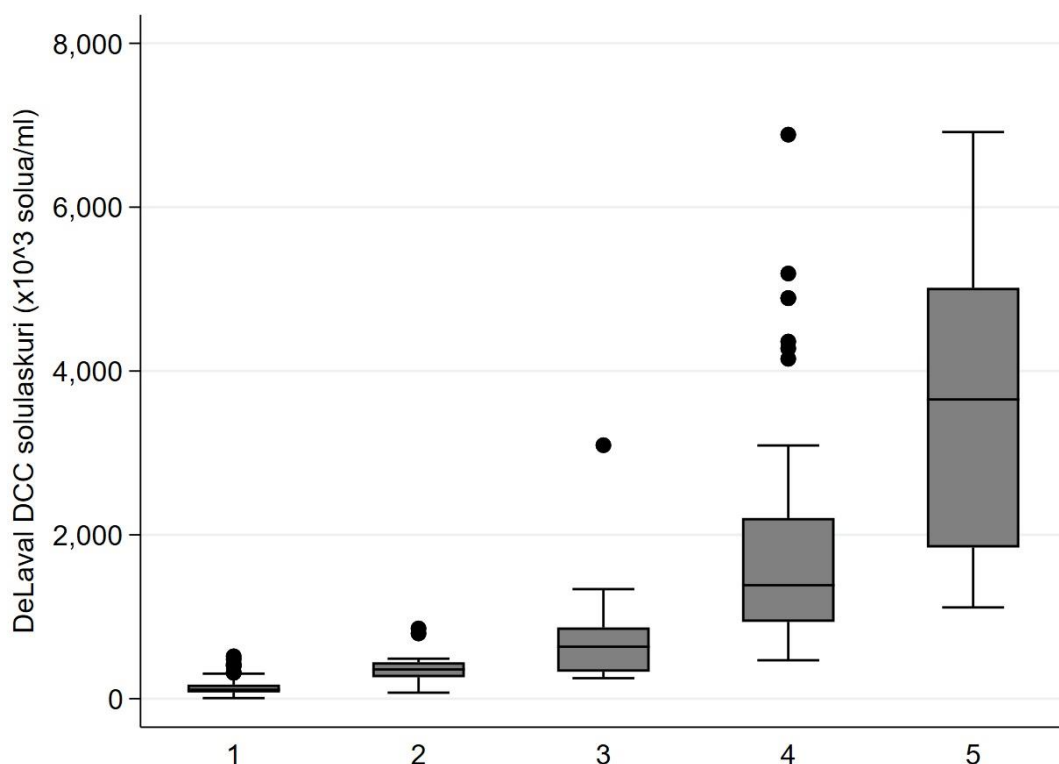


Kuva 3. Solutestin (1-5) tulokset (kpl).



Kuva 4. DeLaval DCC solulaskurin tulokset (kpl). Palkkien leveys 500 000 solua/ml.

Tarkasteltaessa solutestin ja solulaskurin tulosten välistä yhteyttä, havaittiin solutestin tuloksen noustessa yhdellä yksiköllä DeLaval DCC solulaskurin tuloksen nousevan keskimäärin 748 000 solua/ml. Kuvassa 5 ja taulukossa 8 on esitetty DeLaval DCC solulaskurin tulokset ($\times 10^3$ solua/ml) luokiteltuna niiden saamien solutestitulosten (1-5) mukaisesti.



Kuva 5. DeLaval DCC solulaskurin tulokset ryhmiteltynä niiden saamien solutestitulosten (1-5) mukaisesti.

Taulukko 8. DeLaval DCC solulaskurin laskemat soluluvut ($\times 10^3$ solua/ml) verrattuna niille määritettyihin solutestituloksiin (1-5).

Solutesti (1-5)	n	DeLaval DCC solulaskurin soluluvut ($\times 10^3$ solua/ml)			
		Keskiarvo	Min	Max	Keskihajonta
1	37	158	7	517	139
2	12	398	73	857	225
3	18	763	250	3 094	657
4	37	2 004	469	6 885	1 590
5	13	3 706	1 114	6 917	1 983

DeLaval DCC solulaskurin keskimääräinen soluluku infektoituneelle utarepuolikkaalle oli 1 242 000 solua/ml kun vastaava soluluku terveelle utarepuolikkaalle oli 1 255 000 solua/ml. Näiden perusteella ei voida sanoa suuren soluluvun viittaavan viljelyn positiiviseen tulokseen. Taulukossa 9 on verrattu DeLaval DCC solulaskurin tuloksia bakteeriviljelyn tuloksiin. Vastaavasti myös solutestitulokset pyörivät keskimäärin luokkaan 3 viljelytuloksesta riippumatta, kuten taulukossa 10 on esitetty. Tämän perusteella myöskään solutestituloksesta ei voida päätellä utareen infektiostatusta.

Taulukko 9. DeLaval DCC solulaskurin laskemat soluluvut ($\times 10^3$ solua/ml) verrattuna bakteeriviljelyn tuloksiin (positiivinen/negatiivinen).

Viljelytulos	n	DeLaval DCC solulaskurin soluluvut ($\times 10^3$ solua/ml)			
		Keskiarvo	Min	Max	Keskihajonta
Positiivinen	11	1 242	350	3 653	139
Negatiivinen	106	1 255	7	6 917	1 665

Taulukko 10. Solutesti (1-5) tulokset verrattuna bakteeriviljelyn tuloksiin (positiivinen/negatiivinen).

Viljelytulos	n	Solutesti (1-5)			
		Keskiarvo	Min	Max	Keskihajonta
Positiivinen	11	3,4	1	5	1,0
Negatiivinen	107	2,7	1	5	1,5

5 POHDINTA

Tulokset poikkesivat hieman alkuperäisestä hypoteesista, sillä tutkimuksissa ei löydetty laisinkaan *S. aureus* eikä *Streptococcus* spp. -bakteereja. Kuitenkin näytteissä esiintyneet taudinaiheuttajat olivat yleisimmin esiintyneitä KNS-bakteereita, mikä vastasi alkuperäistä tutkimushypoteesia.

Piilevien utaretulehdusten esiintyvyys oli pieni (9,3%) muiden maiden vastaaviin sekä Maisin (1990) aiempiin tutkimuksiin verrattuna. Tutkimusajankohtana suurin osa karjasta oli lypsykauden loppupuolella, jolloin aiemmissa tutkimuksissa esiintyvyyden on todettu tyypillisesti olevan korkeimmillaan (McDougall ym. 2014). Mikäli diagnostiikassa olisi käytetty bakteeriviljelyn sijaan lehmäpuolella jo vakiintunutta PCR-tutkimusta, olisi piilevien utaretulehdusten todellinen esiintyvyys saattanut olla suurempi PCR-tutkimuksen korkeammasta sensitiivisyydestä johtuen. Tulos on kuitenkin verrattavissa muiden maiden tautitilanteisiin, sillä esim. Ruotsissa Persson ja Olofsson (2011) sekä Persson ym. (2015) ovat käyttäneet vastaavissa tutkimuksissa diagnostiikassaan bakteeriviljelyä PCR-tutkimuksen sijaan.

Tutkimuksessamme näytteitä kerättiin kuitenkin vain yhdeltä tilalta, mikä heikentää sen yleistettävyyttä koko maan tautitilanteeksi. Toisaalta Suomessa lypsykuttujen pito on pienimuotoista ja hajanaista, minkä vuoksi tautipaine voi olla monia muita maita pienempi. Tutkimus on kuitenkin tehty suurella tilalla, joka on yhdistetty kahdesta eri karjasta, minkä pitäisi lisätä tautipainetta. Aiemmissa tutkimuksissa on saatu suurta karjakohtaista vaihtelua pito-olosuhteista (kuten lypsyhygienian suuresta vaihtelusta ja kuivituksen toimivuudesta) johtuen (Kalogridou-Vassiliadou 1991, Contreras ym. 2003). Tämän vuoksi piilevien utaretulehdusten alhaista esiintyvyyttä ei voida suoraan yleistää koko maan tautitilannetta vastaavaksi. Esimerkiksi streptokokkien puuttuminen tuloksista voi selittyä yksittäisen tilan hyvällä kuivituksella ja pito-olosuhteiden hygienialla, sillä Contreras ym. (2003) ovat todenneet streptokokkien esiintymisen olevan yhteydessä erityisesti makuualustojen huonoon hygieniaan.

Vaikka tutkimuksessa saatu piilevien utaretulehdusten esiintyvyys on jo valmiiksi alhainen, on silti mahdollista, että osa tuloksista on kontaminaatiota. Tuloksissa yleisimmin esiintyneet stafylokokit ovat myös ihon normaalimikrobistoa ja voineet päätyneet näytteisiin muutoin kuin

maidosta. Vastaavissa tutkimuksissa lypsylehmillä voidaan käyttää soluluvun tulkintaa yhdessä bakteeriviljelyn tuloksen kanssa diagnostiikassa, mutta lypsykutuilla soluluvun tulkinnan ollessa kyseenalaista myös viljelyn tulkinta kontaminaationa hankaloituu. Tutkimuksessa bakteeriviljelyssä kasvaneet KNS-bakteerit ovat kuitenkin kasvaneet puhdasviljelmänä ja vasta 5 pmy:tä on tulkittu infektioksi, joten kontaminaatiosta ei ole ollut epäilystä.

Osa tutkituista KNS-bakteereista myös osoittautui tutkimuksissa beetalaktamaasia tuottaviksi kannoiksi. KNS-bakteerien resistenssin tutkimisessa on kuitenkin monta muutakin menetelmää kuin beetalaktamaasin tuoton tutkiminen, joten KNS-bakteerit voivat olla muutoinkin antibiooteille resistenttejä kuin pelkän beetalaktamaasin tuoton suhteen. Resistenssistatuksen tutkiminen ei kuitenkaan ollut tutkimuksen varsinainen kohde, joten bakteerien tarkempi tyypitys on rajattu tutkimuksen ulkopuolelle.

Korkean soluluvun yhteyttä piilevien utaretulehdusten esiintymiseen ei voitu tutkimuksissa osoittaa, mikä on linjassa aiempien eli jo ennestään ristiriitaisten tutkimustulosten kanssa. Erityisesti DeLaval DCC solulaskurin tuloksia tarkasteltaessa keskihajonta on monin paikoin suurta ja aiheuttaa epävarmuutta tuloksiin. Toisaalta tuloksia olisi voitu tarkastella myös karsimalla ääripään tulokset (alle 10 000 solua/ml ja yli 4 000 000 solua/ml) kokonaan pois tuloksista, sillä DeLaval on ilmoittanut DCC solulaskurin viralliseksi mittausväliksi 10 000-4 000 000 solua/ml, vaikka laskuri antaa tuloksia näiden rajojen ulkopuolelta. DeLaval DCC solulaskurin tai vastaavan koneellisen diagnostiikkamenetelmän käyttöä tulisi kuitenkin tarkastella sen toimivuuden suhteen, sillä objektiivisen koneen käyttäminen poistaisi yksittäisten henkilöiden visuaalisen tulkinnan erot virhelähteistä solutestiä tehdessä. Vaikka tutkimuksessa DCC solulaskurin tuloksilla ei ollut merkitsevää yhteyttä utareen tulehdustilaan, ovat kuitenkin aiemmin Berry & Broughan (2007) todenneet DCC solulaskurin hyväksi diagnostiikkavälineeksi kuttujen solulukua arvioitaessa. Tosin koneellista tulkintaakin käytettäessä tulee olla tietoinen koneen tulosten toistettavuudesta ja virhemarginaaleista.

Koska tässäkään tutkimuksessa korkea solulukku ei suoraan viitannut utareen tulehdustilaan, asettaa tämä kyseenalaiseksi esim. Zhao ym. (2015) tutkimuksen piilevien utaretulehdusten esiintyvyydestä. Tutkimuksessaan Zhao ym. (2015) perustivat Kiinan piilevien utaretulehdusten esiintyvyyden (45,82%) ”positiivisiin solutestituloksiin”, joista vasta solutestituloksien perusteella oli määritetty osasta ”positiivisia tuloksia” mPCR-testillä eri taudinaiheuttajien esiintyvyyttä maidonäytteissä. Tämän lisäksi yllättävän suuri osa

positiivisista näytteistä (11,43%) on ollut tutkimuksessa mm. *E. coli* -bakteereita, joiden aiheuttamat piilevät utaretulehdukset ovat olleet vastaavissa tutkimuksissa erittäin harvinaisia. Esimerkiksi McDougall ym. (2014) tutkimuksessa *E. coli* -bakteeri on kattanut 0,7% positiivisista näytteistä yhdessä *Klebsiella* spp. ja *Serratia* spp. kanssa. Bakterin korkea esiintyvyys herättääkin kysymyksen, onko kyseessä voinut olla kontaminaatio tai vaihtoehtoisesti poikkeuksellisen huono hygieniataso pito-olosuhteissa. PCR-testin käyttö diagnostiikassa bakteeriviljelyn sijaan nostaa sensitiivisyyttä, mutta samalla altistaa virhepositiivisille tuloksille.

Suomessa ei ole todettu monia kuttujen soluluvun määrittystä häiritseviä tekijöitä, kuten CAE-virusinfektioita tai mykoplasmoja, joten soluluvun käyttöä piilevien utaretulehdusten ilmaisimena pitäisi voida tutkia luotettavasti. Siitä huolimatta selkeitä tuloksia soluluvun sopivuudesta piilevien utaretulehdusten diagnostiikassa ei saatu. Tämä tukee myös sitä, miksi lainsäädäntöön ei olla pystytty kirjaamaan kutun maidon soluluvulle ehdotonta rajaa. Tutkimuksessamme ei kuitenkaan havaittu korkeapatogeeniseksi luokiteltuja taudinaiheuttajia kuten *S. aureus* -bakteeria, jonka on monissa tutkimuksissa (Poutrel & Lerondelle 1983, Maisi & Riipinen 1991, Luengo ym. 2004, McDougall ym. 2014, Persson ym. 2015) todettu nostavan solulukua matalapatogeenisia bakteereita kuten KNS-bakteereita enemmän.

Korkeamman maitomäärän yhteys alhaisempaan solulukuun oli odotettua. McDougall ym. 2014 olivat havainneet laajassa tutkimuksessaan vastaavia tuloksia, jossa lypsykauden alussa (viikolla 2) maitomäärän ollessa korkeimmillaan oli soluluku muita alhaisemmalla tasolla.

Vaikka korkea soluluku itsessään ei tutkimusten tulosten mukaan ollut suoraan yhteydessä utareen tulehdistilaan, ei tässä tutkimuksessa analysoitu saman eläimen tulehtuneen ja terveen utarepuolikkaiden välisen soluluvun eroa. Aiemmissa tutkimuksissa (Poutrel & Lerondelle 1983, Maisi 1990) on todettu saman eläimen tulehtuneessa utarepuolikkaassa olevan tervettä puolikasta korkeampi soluluku, eikä tästä mahdollisesti poikkeavia tai yhteneväisiä tuloksia analysoitu.

Koska pelkkä soluluku ei riitä piilevien utaretulehdusten seulontaan kutuilla, tarvitaan parempia diagnostiikkamenetelmiä. Erityisesti tarvitaan solutestin kaltaisia edullisia menetelmiä, joilla voidaan seuloa piileviä utaretulehduksia vuohen äärellä. Bakteeriviljely ja PCR eivät ole taloudellisesti kannattavia tällaisessa seulonnassa.

6 LÄHDELUETTELO

Amores J, Corrales JC, Martín ÁG, Sánchez A, Contreras A, de la Fe C. Comparison of culture and PCR to detect *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in ear swabs taken from goats. Vet Microbiol 2010, 140(1): 105-108.

Bergonier D, Berthelot X, Poumarat F. Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. Rev Sci Tech 1997, 16: 848-873.

Berry DP, Meaney WJ. Interdependence and distribution of subclinical mastitis and intramammary infection among udder quarters in dairy cattle. Prev Vet Med 2006, 75(1): 81-91.

Berry E, Broughan J. Use of the DeLaval cell counter (DCC) on goats' milk. J Dairy Res 2007, 74: 345-348.

Constantinescu GM, Schaller O. Illustrated Veterinary Anatomical Nomenclature. 3. p. Enke, Stuttgart 2012.

Contreras A, Luengo C, Sánchez A, Corrales JC. The role of intramammary pathogens in dairy goats. Livest Prod Sci 2003, 79(2): 273-283.

Dohoo IR, Smith J, Andersen S, Kelton DF, Godden S, Mastitis Research Workers' Conference. Diagnosing intramammary infections: Evaluation of definitions based on a single milk sample. J Dairy Sci 2011, 94: 250–261.

Droke EA, Paape MJ, Di Carlo AL. Prevalence of high somatic cell counts in bulk tank goat milk. J Dairy Sci 1993, 76: 1035-1039.

Eläingeenivaratyöryhmä. Suomen kansallinen eläingeenivaraohjelma. Maa- ja metsätalousministeriö 2004.

http://mmm.fi/documents/1410837/1516663/Suomen_kansallinen_elaingeenivaraohjelma.pdf/de6217f8-7ff2-4aea-9589-4bb31eef6bfd, haettu 5.8.2017.

Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EY) N:o 853/2004, eläinperäisiä elintarvikkeita koskevista erityisistä hygieniasäännöistä. Euroopan unionin virallinen lehti L226, 25.6.2004: 22-82.

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:226:0022:0082:FI:PDF>, haettu 18.8.2017.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2020). Lampaiden ja vuohien sairaudet. <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-terveys-ja-elaintaudit/elaintaudit/lampaat-ja-vuohet/>, haettu 10.30.2020.

Gómez-Martín Á, Amores J, Paterna A, De la Fe C. Contagious agalactia due to *Mycoplasma* spp. in small dairy ruminants: Epidemiology and prospects for diagnosis and control. *Vet J* 2013, 198(1): 48-56.

Haenlein GFW. Relationship of somatic cell counts in goat milk to mastitis and productivity. *Small Ruminant Res* 2002, 45(2): 163-178.

Haenlein GFW. Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Res* 2004, 51(2): 155-163.

Honkanen-Buzalski T, Seuna E. Isolation and identification of pathogens from milk. Teoksessa: Sandholm M, Honkanen-Buzalski T, Kaartinen L, Pyörälä S (toim) *The bovine udder and mastitis*. Gummerus kirjapaino Oy, Jyväskylä, Finland 1995: 121-141. Muunnos.

HH Embryo Oy – Huitin Holstein (Huitin Holstein 2020). Pukkiluettelo 2017. https://www.huitinholstein.net/vuohi/pukkiluettelo_2017, haettu 10.3.2020.

Humphry RW, Cameron A, Gunn GJ. A practical approach to calculate sample size for herd prevalence surveys. *Prev Vet Med* 2004, 65(3): 173-88.

Jandal JM. Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Ruminant Res* 1996, 22(2): 177-185.

Kaba J, Strzalkowska N, Jozwik A, Krzyzewski J, Bagnicka E. Twelve-year cohort study on the influence of caprine arthritis-encephalitis virus infection on milk yield and composition. *J Dairy Sci* 2012, 95: 1617-1622.

Kalogridou-Vassiliadou D. Mastitis-related pathogens in goat milk. *Small Ruminant Res* 1991, 4(2): 203-212.

Karzis J, Donkin EF, Petzer IM. The influence of intramammary antibiotic treatment, presence of bacteria, stage of lactation and parity in dairy goats as measured by the California Milk Cell Test and somatic cell counts. *Onderstepoort J Vet* 2007, 74: 161-167.

Leitner G, Krifucks O, Weisblit L, Lavi Y, Bernstein S, Merin U. The effect of caprine arthritis encephalitis virus infection on production in goats. *Vet J* 2010, 183: 328-331.

Lu CD, Potchoiba MJ, Loetz ER. Influence of vacuum level, pulsation ratio and rate on milking performance and udder health in dairy goats. *Small Ruminant Res* 1991, 5(1): 1-8.

Luengo C, Sánchez A, Corrales JC, Fernández C, Contreras A. Influence of intramammary infection and non-infection factors on somatic cell counts in dairy goats. *J Dairy Res* 2004, 71: 169-174.

Luonnonvarakeskus Luke (Luke 2015). Säilytysohjelmat: Suomenvuohi.

<https://portal.mtt.fi/portal/page/portal/www/Tietopaketti/Elaingeenivarat/sailytysohjelmat/suomenvuohi>, haettu 5.7.2017, päivitetty 2015.

Maa- ja metsätalousministeriön asetus vastustettavista eläintaukeista ja niiden luokittelusta. MMMa 843/201. 5§ Valvottavat eläintaudit, <http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2013/20130843>, haettu 22.8.2017.

Maisi P. Analysis of physiological changes in caprine milk with CMT, NAGase and antitrypsin. *Small Ruminant Res* 1990, 3(5): 485-492.

Maisi P, Riipinen I. Pathogenicity of different species of staphylococci in caprine udder. *Br Vet J* 1991, 147: 126-132.

Marogna G, Pilo C, Vidili A, Tola S, Schianchi G, Leori SG. Comparison of clinical findings, microbiological results, and farming parameters in goat herds affected by recurrent infectious mastitis. *Small Ruminant Res* 2012, 102(1): 74-83.

Matthews JG. Diseases of the mammary gland. Teoksessa: Matthews JG (toim.) Diseases of the goat. 4. p. John Wiley & Sons Inc., West Sussex 2016: 185-203.

McDougall S, Voermans M. Influence of Estrus on Somatic Cell Count in Dairy Goats. *J Dairy Sci* 2002, 85(2): 378-383.

McDougall S, Malcolm D, Prosser C. Prevalence and incidence of intramammary infections in lactating dairy goats. *N Z Vet J* 2014, 62: 136-145.

Nord K, Ådnøy T. Effects of Infection by Caprine Arthritis-Encephalitis Virus on Milk Production of Goats. *J Dairy Sci* 1997, 80(10): 2391-2397.

Paape MJ, Capuco AV. Cellular defense mechanisms in the udder and lactation of goats. *J Anim Sci* 1997, 75: 556-565.

Plummer PJ, Plummer C. Diseases of the mammary gland. Teoksessa: Baird AN, Pugh DG (toim.) Sheep and goat medicine. 2. p. Elsevier/Saunders, Missouri 2012: 442-465.

Persson Y, Olofsson I. Direct and indirect measurement of somatic cell count as indicator of intramammary infection in dairy goats. *Acta Vet Scand* 2011, 53: 15.

Persson Y, Järnberg Å, Humblot P, Nyman A, Waller KP. Associations between *Staphylococcus aureus* intramammary infections and somatic cell counts in dairy goat herds. *Small Ruminant Res* 2015, 133: 62-66.

Petzer IM, Donkin EF, Du Preez E, Karzis J, van der Schans T J, Watermeyer JC, van Reenen R. Value of tests for evaluating udder health in dairy goats: somatic cell counts, California Milk Cell Test and electrical conductivity. *Onderstepoort J Vet* 2008, 75: 279-287.

Poutrel B. Udder Infection of Goats by Coagulase-Negative Staphylococci. *Vet Microbiol* 1984, 9: 131-137.

Poutrel B, Lerondelle C. Cell Content of Goat Milk: California Mastitis Test, Coulter Counter, and Fossomatic for Predicting Half Infection. *J Dairy Sci* 1983, 66(12): 2575-2579.

Ryan DP, Greenwood PL, Nicholls PJ. Effect of caprine arthritis-encephalitis virus infection on milk cell count and N-acetyl-beta-glucosaminidase activity in dairy goats. *J Dairy Res* 1993, 60: 299-306.

Sanchez A, Contreras A, Corrales JC, Marco JC. Relationships between infection with caprine arthritis encephalitis virus, intramammary bacterial infection and somatic cell counts in dairy goats. *Vet Rec* 2001, 148: 711-714.

Schaeren W, Maurer J. Prevalence of subclinical udder infections and individual somatic cell counts in three dairy goat herds during a full lactation. *Schweiz Arch Tierh* 2006, 148: 641-648.

Sergeant ESG (Sergeant 2018). Epitools epidemiological calculators. Ausvet Pty Ltd. <http://epitools.ausvet.com.au>, haettu 2.8.2018

Sinapis E, Hatziminaoglou I, Marnet PG, Abas Z, Bolou A. Influence of vacuum level, pulsation rate and pulsator ratio on machine milking efficiency in local Greek goats. *Livest Prod Sci* 2000, 64(2): 175-181.

Suomen virallinen tilasto SVT (SVT 2019). Kotieläinten lukumäärä. Luonnonvarakeskus, Helsinki. <http://stat.luke.fi/tilasto/36>, haettu 11.2.2020, päivitetty 18.12.2019.

Suomen vuohiyhdistys. Pikkuisen tietoa vuohen terveydestä. <http://www.suomenvuohiyhdistys.fi/index.php?pageid=17&kieli=fi>, haettu 5.7.2017, päivitetty 2017.

Tola S, Angioi A, Rocchigiani AM, Idini G, Manunta D, Galleri G, Leori G. Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Vet Microbiol* 1997, 54(1): 17-22.

Turkmen N. The Nutritional Value and Health Benefits of Goat Milk Components. Teoksessa: Watson RR, Collier RJ, Preedy VR (toim.) *Nutrients in Dairy and their Implications on Health and Disease*. 1.p. Academic Press, Lontoo 2017: 441-449.

White EC, Hinckley LS. Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. *Small Ruminant Res* 1999, 33: 117-121.

Wilson DJ, Stewart KN, Sears PM. Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. *Small Ruminant Res* 1995, 16(2): 165-169.

Wooding FBP, Peaker M, Linzell JL. Theories of milk secretion: evidence from the electron microscopic examination of milk. *Nature* 1970, 226: 762-764.

Zhao Y, Liu H, Zhao X, Gao Y, Zhang M, Chen D. Prevalence and pathogens of subclinical mastitis in dairy goats in China. *Trop Anim Health Prod* 2015, 47: 429-435.